

Untersuchungen zur photoperiodischen Steuerung
der Jugendentwicklung
beim Dsungarischen Hamster

vorgelegt von
Dr.med.vet. Michael Brückmann
München 1978

Untersuchungen zur photoperiodischen Steuerung der Jugend-
entwicklung beim Dsungarischen Hamster (*Phodopus sungorus*
sungorus PALLAS)

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie der Ludwig-Maximilian-Universität
München

vorgelegt von

Dr. med. vet. Michael Brackmann

aus Vechta

München 1978



1. Berichterstatter: Prof. Renner
2. Berichterstatter: Prof. Zettler

Tag der mündlichen Prüfung: 11.4.1978

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Renner für sein Interesse und die Vertretung der Arbeit vor dem Fachbereich Biologie.

Herrn Prof. Dr. J. Aschoff danke ich für die Möglichkeit, in seiner Abteilung des Max-Planck-Instituts für Verhaltensphysiologie in Erling-Andechs die Untersuchungen durchzuführen, sowie für die jederzeit freundliche Unterstützung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. K. Hoffmann für die Einführung in dieses Forschungsgebiet, für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine Unterstützung und Ratschläge während der Durchführung.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des MPIV für die jederzeit gewährte Hilfe bei den Versuchsdurchführungen sowie für die anregenden Diskussionen. Insbesondere danke ich Fr. A. Bock für die Durchführung der histologischen Arbeiten, und für das Anfertigen der graphischen Darstellungen. Fr. A. Bauer und Fr. W. Befort danke ich für das Schreiben der Manuskripte.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
Abschnitt I	
Die Ontogenese der photoperiodischen Reaktion	
Einführung	3
Material	6
Methode	7
Ergebnisse	
Entwicklung verschiedener Körperfunktionen	9
unter langen und kurzen Photoperioden	
Einfluß von Änderungen der Photoperiodenlänge	16
zu verschiedenen Altersstufen auf die	
Hodenentwicklung	
Einfluß der photoperiodischen Reaktion der	21
Eltern auf die präubertale Entwicklung ihrer	
Jungen	
Einsetzen der Geschlechtsreife bei männlichen	24
Hamstern unter natürlichen Photoperioden in	
Abhängigkeit vom Geburtsdatum	
Diskussion	26
Abschnitt II	
Der physiologische Mechanismus der photoperiodischen Reaktion	
Einführung	34
Material	6
Methodik	39
Pinealektomie	40
Ganglionektomie	41
Melatonin Implantierung	42
Ergebnisse	
Auswirkung der Pinealektomie bei männlichen	44
Jungtieren im Kurz- und im Langtag	
Auswirkung der Pinealektomie bei weiblichen	47
Jungtieren im Kurz- und im Langtag	

Auswirkung der Ganglionektomie bei männlichen Jungtieren im Kurz- und im Langtag	50
Auswirkung von Melatoninimplantaten bei männlichen Jungtieren im Langtag	52
Diskussion	55
Abschnitt II	
Die postnatale Entwicklung des Pinealorgans	
Einführung	61
Material u. Methodik	63
Ergebnisse	65
Diskussion	70
Schlußbetrachtung	73
Zusammenfassung	75
Literaturverzeichnis	77
Tabellenanhang	85

Einleitung:

Viele wildlebende Säuger in mittleren und höheren Breiten zeigen jahresperiodische Änderungen in verschiedenen Funktionen. Besonders ausgeprägt ist die Jahresperiodik der Fortpflanzungsaktivität, welche in vielen Fällen mit strukturellen und funktionellen Änderungen in den Reproduktionsorganen einhergeht. Hierdurch wird die Geburt der Jungen so plaziert, daß für deren Aufzucht die jeweils günstigste Jahreszeit genützt werden kann, in den meisten Fällen der Sommer. Zeitgeber für die jahreszeitliche Orientierung ist häufig die Photoperiode, das jahreszeitlich sich ändernde Verhältnis von Lichtzeit zu Dunkelzeit (Aschoff 1955). Während bei Tieren mit relativ langer Tragzeit, wie etwa bei verschiedenen Ungulaten, kurze Photoperioden auf die Gonaden stimulierend wirken, haben diese Photoperioden bei Tieren mit kurzer Tragzeit, wie etwa bei verschiedenen Nagern, Insktivoren oder Musteliden, eine inhibitorische Wirkung; bei diesen Arten wirken lange Photoperioden stimulierend.

Bei vielen Tierarten, die mehrere Würfe in einer Fortpflanzungsperiode hervorbringen, ergeben sich jahreszeitliche Unterschiede in der Entwicklung der Jungen. Die zu Beginn der Fortpflanzungsperiode geborenen Jungen werden sehr schnell geschlechtsreif, und beteiligen sich noch im Jahr ihrer Geburt an der Vermehrung der Population. Die gegen Ende der Saison geborenen Jungen entwickeln ihre Gonaden nur bis zu dem Zustand, den die Alttiere nach der herbstlichen Regression aufweisen. Sie werden erst zu Beginn der nächsten Fortpflanzungsperiode geschlechtsreif. Bei verschiedenen Arten ist gezeigt worden, daß die Entwicklung bis zur sexuellen Reife ebenfalls von der Photoperiode beeinflusst wird (Sadleir, 1969). Besonders deutliche Unterschiede in der Jugendentwicklung in Abhängigkeit von der Photoperiode während der Aufzucht wurden beim Djungarischen Hamster (*Phodopus sungorus*) beschrieben. Männliche Hamster die von Geburt an unter langen Photoperioden aufwuchsen, hatten mit 35 Tagen

voll funktionsfähige Hoden. Dagegen blieben die Gonaden bis zum Alter von 120 Tagen klein und inaktiv, wenn die Tiere unter kurzen Photoperioden aufgezogen wurden (Hoffmann, im Druck). Ziel der hier geschilderten Untersuchungen war eine genauere Analyse dieser Verzögerungen der Pubertät durch die Photoperiode. Zunächst soll die Ontogenese der präpubertalen photoperiodischen Reaktion beschrieben werden. Weiterhin soll der zugrundeliegende physiologische Mechanismus dieser Reaktion untersucht werden, wobei besonderes Augenmerk auf das Pinealorgan gelegt wird, von dem bekannt ist, daß es sowohl an der Steuerung der Jahresperiodik als auch an der Regulation der Pubertät beteiligt ist. Beide Fragenkomplexe umgreifend soll schließlich die postnatale Entwicklung des Pinealorgans verglichen werden mit der Ontogenese der photoperiodischen Reaktion.

Abschnitt I

Die Ontogenese der photoperiodischen Reaktion

Einführung:

Zum Mechanismus der photoperiodischen Zeitmessung werden zwei verschiedene Prinzipien in Betracht gezogen. Auf der einen Seite besteht die Möglichkeit, daß die Photoperiode nach einem Sanduhr-Prinzip gemessen wird, wobei entweder die Länge der Lichtzeit oder die Länge der Dunkelzeit ermittelt wird oder aber das Verhältnis aus beiden. Die andere Möglichkeit ist die Messung der Photoperiode nach dem Oscillator-Prinzip, wobei die Photoperiode über eine circadiane Uhr perzipiert wird (Bünning 1936). Diskutiert werden in diesem Zusammenhang ein externes und ein internes Koinzidenzmodell (Pittendrigh u. Minis 1964; Pittendrigh 1972). Zum Teil sehr verschieden angelegte Versuche zeigen, daß bei Säugern die Photoperiode über eine circadiane Uhr gemessen wird (Grocock u. Clarke 1972; Stetson u.a. 1975; Elliot 1974). Dagegen fehlen bisher Hinweise für einen Sanduhr-Mechanismus bei Säugern.

Auf der einen Seite gibt es bei Säugern starke Hinweise dafür, daß sich das circadiane System erst postnatal entwickelt (Morin u. Cautrin, 1967). Auf der anderen Seite ist es für die Jungtiere aber notwendig, daß sie möglichst bald nach der Geburt in der Lage sind, die Photoperiode zu messen, damit die angepasste Entwicklung der Körperfunktionen erfolgt. Daher galten die ersten Untersuchungen dieser Arbeit der Ontogenese der photoperiodischen Reaktion.

Bei den ersten Befunden zur photoperiodischen Kontrolle der Jugendentwicklung beim Dsugarischen Hamster (Hoffmann im Druck) wurde die Hodenentwicklung der Männchen vom Alter von 30 Tagen an dargestellt. Zu dieser Zeit hatten die Tiere unter langen Photoperioden bereits sehr weit entwickelte Hoden,

während die Tiere im Kurztag zu der Zeit noch inaktive Gonaden aufwiesen. Es stellte sich die Frage, von welchem Stadium der Jugendentwicklung an photoperiodische Reize wirksam werden. Hierzu schien es zunächst notwendig, die Testikelentwicklung von Geburt ab unter beiden Bedingungen zu verfolgen, um zu sehen, wann sich zum ersten Mal ein Einfluß der Photoperiode auf die Gonadenentwicklung bemerkbar macht. Paralell dazu sollte das Wachstum der Geschlechtsorgane auch bei weiblichen Tieren von Geburt ab untersucht werden.

Es stellte sich außerdem die Frage, ob es in der Ontogenese der Hamster eine spezielle, zeitlich begrenzte sensible Phase gibt, während der die Photoperiode gemessen und danach die Entwicklungsrichtung irreversibel festgelegt wird. In diesem Falle wäre die präpubertale photoperiodische Reaktion auf einen der Prägung ähnlichen Vorgang zurückzuführen. Der Klärung dieses Problems dienten Versuche, bei denen zu verschiedenen Entwicklungsstufen die photoperiodischen Bedingungen geändert wurden und der Einfluß dieser Wechsel auf die Gonadenentwicklung gemessen wurde.

Bei unter natürlicher Photoperiode geborenen und aufwachsenden Jungtieren sollte die Gonadenentwicklung in Abhängigkeit von der Zeit ihrer Geburt im Jahreszyklus festgestellt werden. Es sollte dabei gezeigt werden, ab wann im Frühjahr das beschleunigte Gonadenwachstum einsetzt und wann im Herbst Anzeichen einer Winteranpassung nachweisbar sind. Dabei wurde auch die Frage nach der kritischen Photoperiode berührt, der Unterscheidungsgrenze zwischen langer und kurzer Photoperiode.

Da beim Dsüngarischen Hamster nicht nur die Jungen, sondern auch die Alttiere photoperiodisch reagieren, ergab sich das Problem, ob die photoperiodische Reaktion der Eltern einen Einfluß hat auf die sexuelle Entwicklung ihrer Jungen. Dazu

sollte die Gonadenentwicklung der Nachkommen aus aufeinanderfolgenden Würfen von Elterntieren untersucht werden, die zunächst photoperiodisch indifferent waren, dann durch lange Photoperioden stimuliert waren, und schließlich erneut kurzen Photoperioden ausgesetzt die Fortpflanzungsaktivität einstellten. Die anfängliche photoperiodische Indifferenz dieser Zuchttiere wurde dadurch erzielt, daß sie von ihrer Geburt an solange unter kurzen Photoperioden gehalten wurden, bis sie schließlich nach etwa 150 Tagen spontan geschlechtsreif und fortpflanzungsfähig wurden. Auf sie übte dann der Kurztag keinen inhibitorischen Einfluß mehr aus, was als photoperiodisches Indifferenz angesehen wurde (s.a. Hoffmann im Druck).

Material:

Als Versuchstier diente der Dsungarische Zwerghamster *Phodopus sungorus* PALLAS der in verschiedenen Körperfunktionen eine ausgeprägte Jahresperiodik zeigt. Das natürliche Verbreitungsgebiet der Subspezies ist die zentralasiatische Wermutsteppe. Die am hiesigen Institut gehaltene Kolonie stammt ab von vier 1965 in der Nähe von Omsk gefangenen Tieren. Diese nordwestliche Population zeigt neben saisonalen Änderungen der Fortpflanzungsorgane und des Körpergewichts zusätzlich einen Fellwechsel, wobei die im Sommer grau-braunen Tiere unter Beibehaltung des dunklen Aalstriches im Winter ein weißes Fell aufweisen (Figala u.a. 1973; Flint, 1965). Die Fortpflanzungszeit beginnt im März und endet im September, jedoch wurden vereinzelt auch schon im Februar und noch im Oktober Würfe registriert. Da die Weibchen einen fruchtbaren postpartalen Östrus haben, kann ein Zuchtpaar während dieser Zeit bis zu 10 Würfe hervorbringen.

Nach einer Tragzeit von etwa 18 Tagen werden im Mittel 5 - 7 Junge geboren. Sie sind zunächst haarlos und unpigmentiert und die Lidspalte ist noch geschlossen. Die Pigmentierung der Rückenparie beginnt am zweiten Lebenstag und die Behaarung setzt ein zwischen dem sechsten und siebten Lebenstag. Die Geschlechtsunterscheidung gelingt zu dieser Zeit am einfachsten durch Inspektion der Mammarkomplexe. Sie sind bei den Männchen schwarz pigmentiert, während sie bei den Weibchen einen glasig erscheinenden Hof aufweisen. Die Lidspalte öffnet sich zwischen dem zehnten und zwölften Lebenstag. Zu dieser Zeit beginnen die Jungtiere das Nest für kurze Exkursionen selbstständig zu verlassen. Mit 21 Tagen sind die Jungen soweit entwickelt, daß sie von den Alttieren getrennt und einzeln gehalten werden können. Die Lebenserwartung beträgt etwa zwei Jahre,

jedoch wurden einzelne Tiere bis zu drei Jahre alt.

Methode:

Die Zuchtkolonie wird am hiesigen Institut in einem auf $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ temperierten Raum gehalten, der nur durch das natürliche Tageslicht beleuchtet wird, so daß die Tiere den jahreszeitlichen Änderungen der Photoperiode ausgesetzt sind. Die während der Wintermonate zusammengesetzten Zuchtpaare wurden während der darauffolgenden Fortpflanzungsperiode täglich kontrolliert. Dadurch war es möglich, Neugeborene spätestens innerhalb von 48 Stunden nach ihrer Geburt in den Versuch zu nehmen. Als Versuchsräume dienten zwei gleichgestaltete auf $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ temperierte Klimakammern, die sich nur durch die Länge der täglichen Lichtzeit unterschieden. Als Langtag wurde eine tägliche Lichtzeit von 16 Stunden (von 4h - 20h) genommen, während als Kurztag eine Photoperiode von 8 Stunden (von 8h - 16h) gewählt wurde. Die Beleuchtungsstärke betrug jeweils zwischen 80 und 1000 Lux in Abhängigkeit von der Position des Käfigs in der Kammer (Deckenbeleuchtung, weiße Leuchtstoffröhren).

Entsprechend der Institutsroutine blieben die Jungtiere bis zum Alter von 21 Tagen bei ihren Eltern. Sie wurden dann abgesetzt und weiter einzeln in undurchsichtigen Plastik Käfigen (32 X 21 X 15cm) auf Sägemehleinstreu gehalten. Sie erhielten pelletiertes Zuchtfutter für Hamster (Altromin) und Wasser ad lib. Einmal wöchentlich wurde ihnen zusätzlich ein Stück Apfel gegeben.

Zum jeweiligen Versuchsende wurden die Tiere mit Halothane R (2-Brom-2-Chlor-1,1,1-trifluoräthan) getötet und das Körpergewicht wurde bestimmt. Bei männlichen Tieren wurden

die ventrale Markierdrüse, die Hoden und als akzessorische Drüsen Prostata und Samenblase im Zusammenhang, bei weiblichen Tieren Ovarien und Uterus von der Cervix bis zu den Eileitern entnommen und gewogen. Die für die histologische Untersuchung benötigten Organe (jeweils der linke Hoden und beide Ovarien) wurden nach dem Wiegen in Bouin fixiert, in Paraplast eingebettet, 5 μ dick geschnitten und die Schnitte mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Ergebnisse:

Entwicklung verschiedener Körperfunktionen unter langen und kurzen Photoperioden

Die Körpergewichtsentwicklung männlicher Tiere unter beiden photoperiodischen Bedingungen ist in Abb. 1 dargestellt. Nach der Geburt stieg das Körpergewicht in beiden Gruppen steil an, wobei die Tiere im Kurztag jeweils leichter waren als die im Langtag. Mit etwa 50 Tagen hatten beide Gruppen ein Gewicht von etwa 30g erreicht. Während die Tiere im Langtag auch über dieses Alter hinaus eine Zunahme zeigten bis zu einem mittleren Kgw von 45g, blieben die Männchen im Kurztag auf dem Niveau, das mit 50 Tagen erreicht war. Ab dem Alter von 25 Tagen unterschieden sich die beiden Gruppen statistisch signifikant voneinander ($p < 0,05$).

Die Hodengewichtsentwicklung der Hamster im Lang- und Kurztag zeigt die Abb. 2. Bis zum Alter von 10 Tagen war unter beiden Bedingungen die Hodenentwicklung identisch. Dann trennen sich die Gewichtskurven voneinander und der erste statistisch signifikante Unterschied war im Alter von 16 Tagen nachweisbar ($p < 0,05$). Dann stieg das Hodengewicht im Langtag rapide an und erreichte ein Maximum zwischen dem 35. und 40. Lebenstag. Dann waren auch motile Spermatozoen in den Ausstrichen der Nebenhodenschwänze zu finden. Die Hoden der Männchen im Kurztag verblieben auf dem Entwicklungszustand,

den sie mit 10 Tagen erreicht hatten.

Ein deutlicher Einfluß der Photoperiode ließ sich auch auf die Entwicklung der akzessorischen Drüsen nachweisen Abb. 3. Hier verlief die Entwicklung identisch unter beiden Photoperioden bis zum Alter von etwa 17 Tagen. Der erste statistische signifikante Unterschied war mit 23 Tagen sicherbar ($p < 0,05$), wobei das Gewicht der Drüsen im Langtag auch darüber hinaus noch steil anstieg, während es im Kurztag etwa auf dem Niveau stehenblieb, das mit 20 Tagen erreicht war.

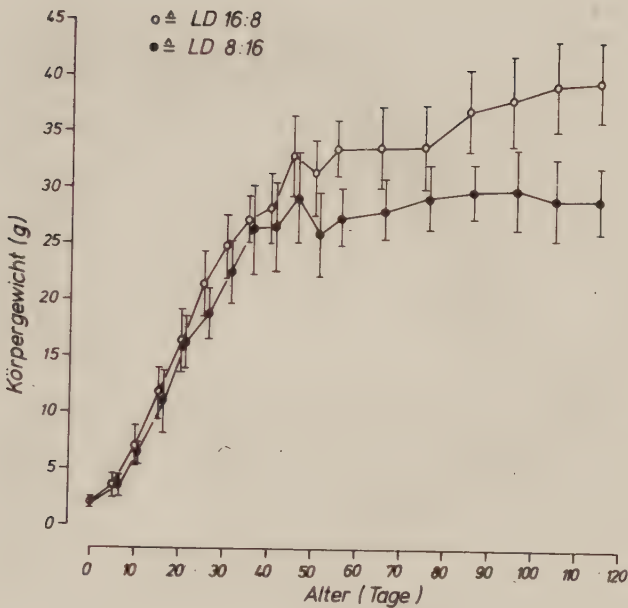


Abb. 1 Körpergewichtsentwicklung männlicher Tiere unter langen (LD 16:8) und kurzen Photoperioden (LD 8:16) Angegeben sind die gruppierten Mittelwerte aus jeweils 5 Tagen mit der Standardabweichung. Jeder Punkt repräsentiert mehr als 20 Einzelmessungen.

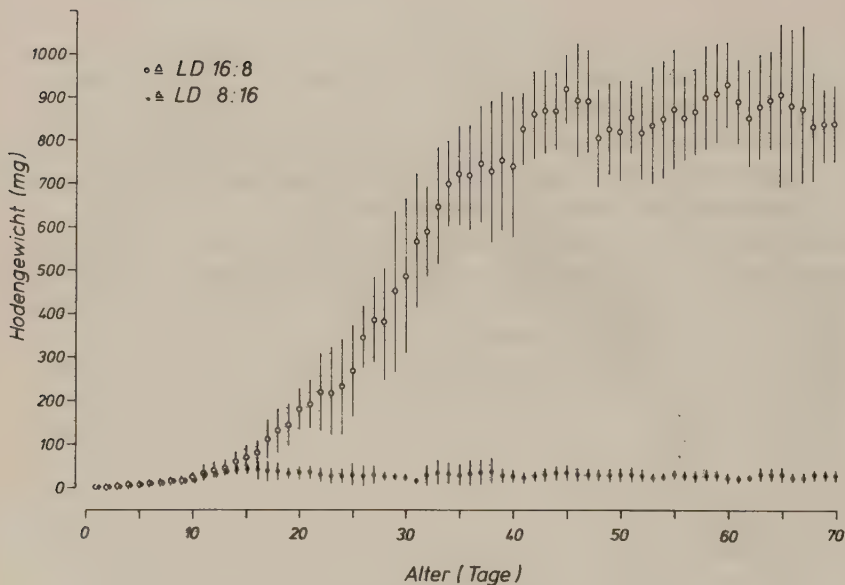


Abb. 2 Hodengewichtsentwicklung unter langen (LD 16:8) und kurzen Photoperioden (LD 8:16). Angegeben ist der gleitende Mittelwert über drei Tage mit der Standardabweichung. Jeder Punkt repräsentiert mehr als 10 Einzelmessungen.

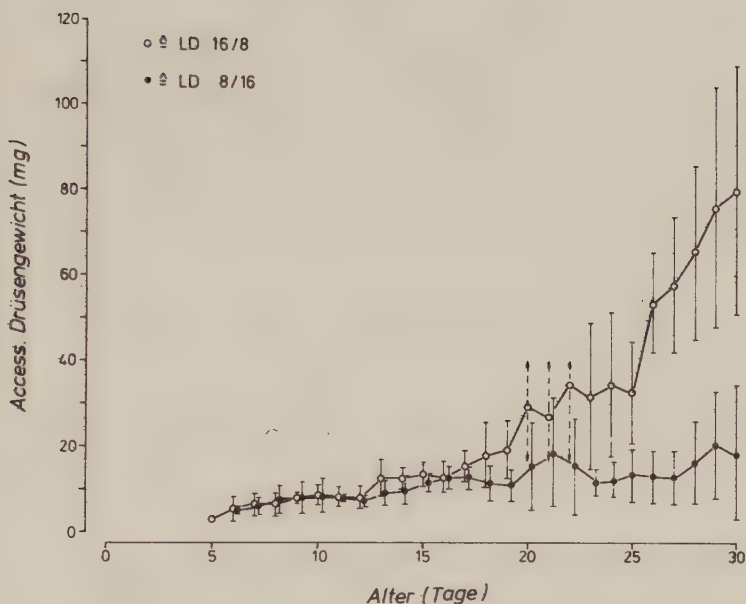


Abb. 3 Gewichtsentwicklung der akzessorischen Drüsen (Prostata und Samenblase) unter langen (LD 16:8) und kurzen Photoperioden (LD8:16). Angegeben ist der gleitende Mittelwert über 3 Tage mit der Standardabweichung. Jeder Punkt repräsentiert mehr als 10 Einzelmessungen.

Auch bei weiblichen Tieren war eine unterschiedliche Entwicklung der Geschlechtsorgane in Abhängigkeit von der Photoperiode festzustellen. Die Abb. 4 zeigt die Gewichtsentwicklung des Uterus im Lang- und im Kurztag. Unter beiden Bedingungen war eine mehr oder minder stetige Gewichtszunahme festzustellen, jedoch war die Zunahme im Langtag sehr viel größer als im Kurztag. Mit 20 Tagen war ein signifikanter Unterschied im Uterusgewicht zwischen Langtags- und Kurztagsweibchen nachweisbar ($p < 0,05$).

Diese Unterschiede in der Geschlechtsentwicklung zeigten sich auch im histologischen Bild der Ovarien. Während bei den Kurztagstieren (Abb. 5A) vornehmlich atretische Follikel oder nur frühe Stadien der Follikelreife zu finden waren, wiesen die Langtagstiere eine Fülle ovulationsbereiter Graaf'scher Follikel auf. In einigen Fällen könnten auch Corpora lutea gefunden werden.

Bei den verschiedenen Versuchen zeigte sich, daß bei etwa 5% der Tiere die kurzen Photoperioden keine inhibitorische Wirkung hatten. Diese Tiere zeigten im Kurztag eine Entwicklung wie im Langtag. Ähnliches wurde auch bei Adulten beobachtet (Hoffmann u. Goldau pers. Mitt.) Etwa 10% der adulten Männchen zeigten im Herbst keine Gonadenregression und keinen Wechsel in das Winterfell (Figala u.a. 1973),

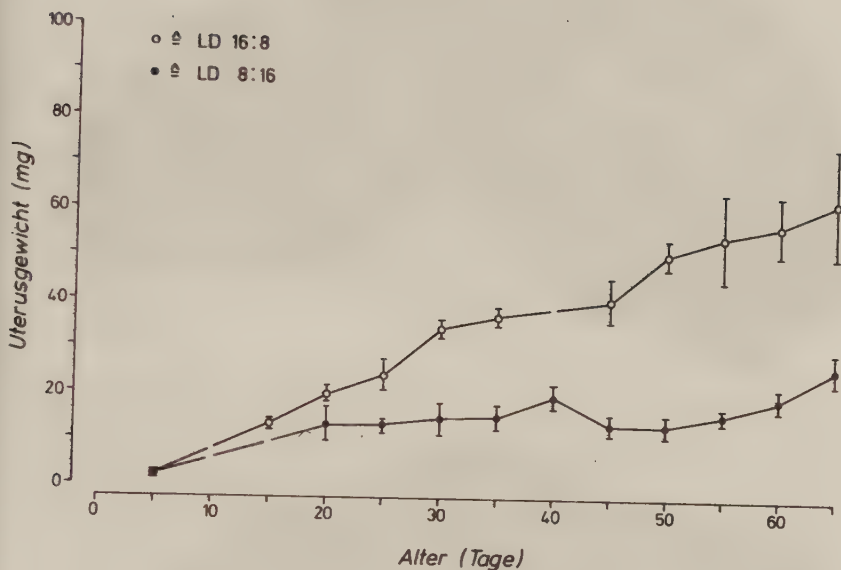


Abb. 4 Uterusgewichtsentwicklung unter langen (LD 16:8) und kurzen Photoperioden (LD 8:16). Angegeben sind die gruppierten Mittelwerte aus 5 Tagen mit dem mittleren Fehler des Mittelwertes. Jeder Punkt repräsentiert mehr als 10 Einzelmessungen.

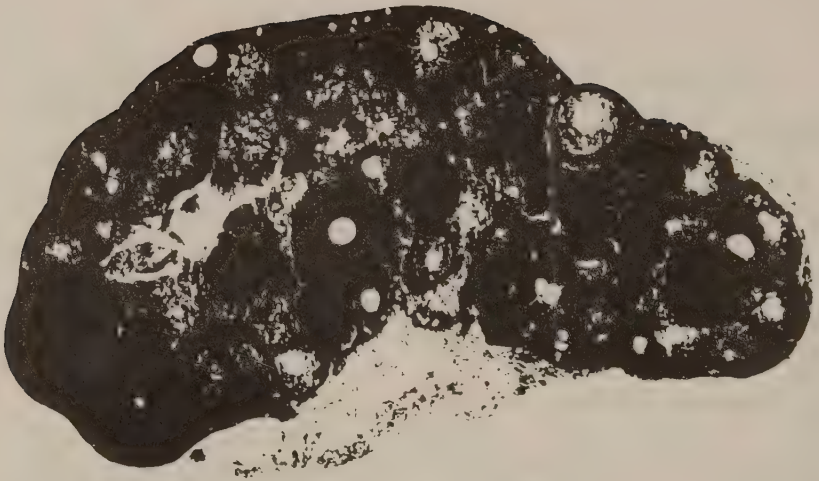


Abb. 5 Ovarienquerschnitte im Alter von 45 Tagen (120 x Vergr.) Die Weibchen wurden von Geburt an entweder unter kurzen (Abb. 5 oben) oder unter langen Photoperioden (Abb. 5 unten) gehalten. Während das Ovar des Kurztagweibchens nur frühe Stadien der Follikelreife aufweist, sind an dem Ovar des Langtagweibchens verschiedene zur Ovulation bereite Graaf'sche Follikel zu sehen.

Einfluß von Änderungen der Photoperiodenlänge zu verschiedenen Altersstufen auf die Hodenentwicklung

Jungtiere wurden innerhalb von 48 Std. nach der Geburt in den Lang- bzw. Kurztag gesetzt. Ein Teil der Langtagtiere wurde nach 7 Tagen, ein weiterer nach 14 Tagen und ein dritter nach 21 Tagen in den Kurztag gebracht. Umgekehrt wurde mit den Kurztagstieren verfahren. Sie wurden nach 7, 14 oder 21 Tagen in den Langtag gesetzt. Bei allen Tieren wurde mit 40 Tagen das Hodengewicht bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 6 zusammengefaßt. Hamster, die während der ersten (7/33) oder der beiden ersten Lebenswochen (14/26) im Langtag gelebt hatten und dann weiter unter kurzen Photoperioden aufwuchsen (LT/KT, Abb. 6 rechts), hatten mit 40 Tagen ebenso kleine und wenig entwickelte Hoden wie die Tiere, die von Geburt an unter kurzen Photoperioden lebten (0/40). Diejenigen Männchen jedoch, die in den ersten drei Wochen im Langtag aufwuchsen (21/19), hatten signifikant schwerere Gonaden als die Kurztagskontrollen. Im umgekehrten Versuch (KT/LT Abb. 6 links) unterschieden sich Tiere, denen in der ersten Lebenswoche kurze Photoperioden und anschließend lange Photoperioden geboten wurden (7/33), in ihrem Hodengewicht nicht von den Langtagskontrollen (0/40). Eine leichte Verzögerung der Gonadenentwicklung war bei den Hamstern festzustellen, die zunächst 14 Tage im Kurztag verbracht hatten. Die Verzögerung war hoch signifikant bei den Tieren, die nach der Geburt 21 Tage in kurzen Photoperioden lebten (21/19).

Die Beziehung zwischen Hodengewicht und Durchmesser der Tubuli seminiferi (Abb. 7) zeigte, daß diese Gewichtsunterschiede auch strukturelle Unterschiede repräsentierten.

Bis zu einem Einzelhodengewicht von etwa 350mg stieg der zugehörige Tubulusdurchmesser in nichtlinearer, jedoch stetiger Abhängigkeit an. Oberhalb dieses Gewichts änderte sich der mittlere Tubulusdurchmesser nur noch unwesentlich. Bei einem Einzelhodengewicht von 350mg waren in der Regel als Zeichen der Geschlechtsreife auch motile Spermien in den Nebenhodenschwänzen zu finden. Die mit den Änderungen im Tubulusdurchmesser einhergehenden strukturellen Änderungen zeigen die histologischen Bilder (Abb. 8) von verschieden weit entwickelten Hoden. In den Tubuli des in 8a gezeigten Hodens sind neben den Spermatogonien lediglich einige Spermatocyten 1. Ord. zu finden. Der in 8b wiedergegebene Hoden weist schon weitere Stadien der Spermatogenese auf, jedoch sind Spermatiden noch nicht eindeutig zu identifizieren. Bei dem Hoden 8c sind die Tubuli inzwischen deutlich kanalisiert und Spermatiden in der Spermiohistogenese sind zu sehen, die jedoch noch nicht abgeschlossen ist, da in keinem der Tubuli in das Lumen hineinragende Spermischwänze gefunden wurden, wie dies bei dem Hoden 8d der Fall ist. Hier sind die Tubuli angefüllt mit reifen Spermien. Dieses Bild eines voll aktiven Hodens zeigten alle Hoden mit Gewichten von mehr als 350mg.

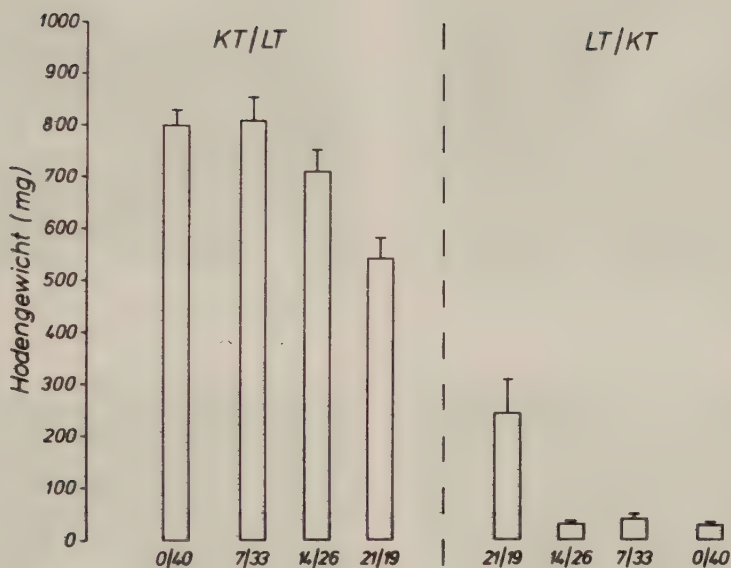


Abb. 6 Hodengewichte im Alter von 40 Tagen (MW+SE)
Die Tiere waren entweder zunächst kurzen und anschließend
langen Photoperioden ausgesetzt (KT/LT) oder umgekehrt
zunächst langen und dann kurzen Photoperioden (LT/KT).
Die Anzahl der Tage in der jeweiligen Photoperiode ist
angegeben. Als Kontrolle sind Werte von Tieren dargestellt
die von Geburt an nur im Kurz- bzw. Langtag waren (0/40).

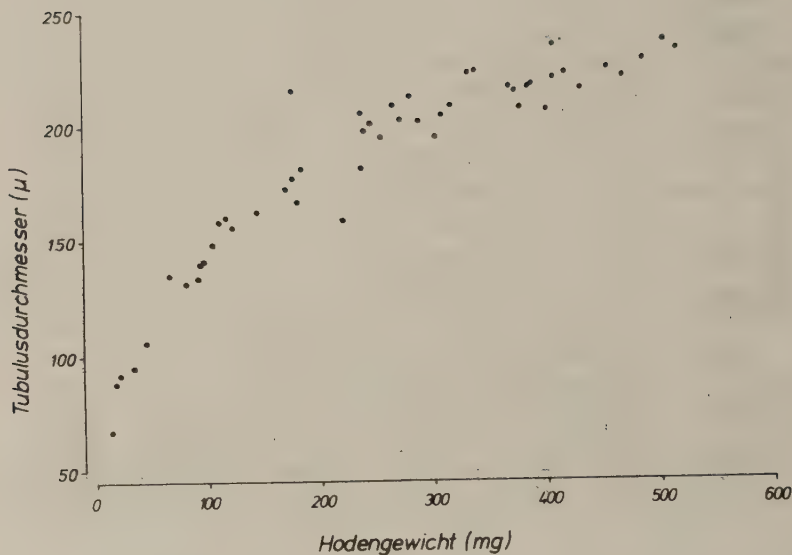


Abb. 7 Beziehung zwischen mittlerem Tubulus-Durchmesser und Hodengewicht

Ausgewertet wurden jeweils die linken Hoden von Tieren, die mit 40 Tagen unterschiedlich weit entwickelte Gonaden aufwiesen. Der mittlere Tubulusdurchmesser wurde für jeden Hoden aus 20 Einzelmessungen ermittelt.

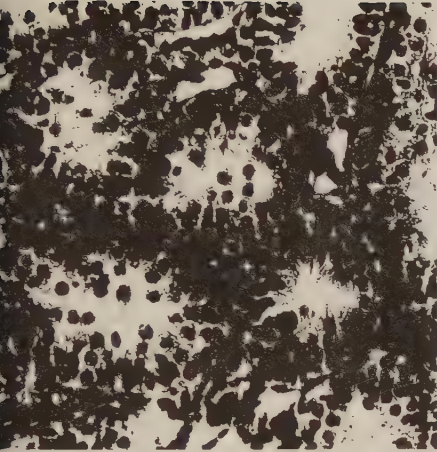


Abb. 8a 19,2 mg; $\varnothing$ 87,6

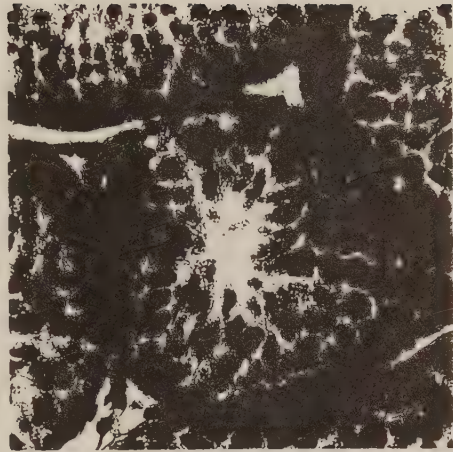


Abb. 8b 123,7mg; $\varnothing$ 155,2



Abb. 8c 241,0 mb; $\varnothing$ 197,6

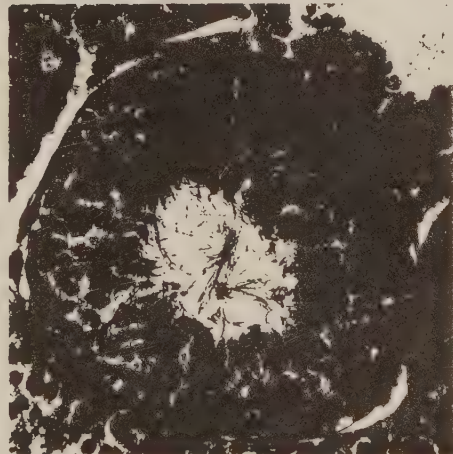


Abb. 8d 371,6mg; $\varnothing$ 216,5

Abb. 8 Hodenquerschnitte von Hamstern, die mit 40 Tagen unterschiedlich weit entwickelte Gonaden aufwiesen (320 X vergr.). Das Hodengewicht sowie der entsprechende mittlere Tubulusdurchmesser ist jeweils angegeben.

Einfluß der photoperiodischen Reaktion der Eltern auf die präpubertale Entwicklung ihrer Jungen.

Um einen möglichen Einfluß der photoperiodischen Reaktion der Eltern auf die Entwicklung ihrer Jungen nachzuweisen, wurden die Hodengewichte von Jungtieren bestimmt, die von Elterntieren aufgezogen wurden, die so lange im Kurztag gelebt hatten bis sie nicht mehr auf die kurzen Photoperioden reagierten (s.a. Hoffmann im Druck). Diese Gonadengewichte wurden dann verglichen mit den Hodengewichten von Jungen derselben Elternpaare, die geboren wurden, als die Eltern langen Photoperioden ausgesetzt waren, oder die aufgezogen wurden, als die Eltern dann erneut in den Kurztag gebracht wurden. Da im Kurztag dann nur noch ein Wurf gezeugt wurde (Wurf VII; die Würfe V wurden noch im Langtag geboren und die Würfe VI noch im Langtag gezeugt), kann angenommen werden, daß die Elterntiere wieder empfindlich waren für den Einfluß kurzer Photoperioden und in Reaktion auf den Kurztag die Fortpflanzungsaktivität einstellten.

Von den 6 für diesen Versuch zusammengesetzten Zuchtpaaren, die nach etwa 200 Tagen Aufenthalt im Kurztag sich photoperiodisch indifferent verhielten, brachten 4 Nachkommen hervor, wobei das Paar 1 nur einen und das Paar 5 nur zwei Würfe bekam. Bei dem Paar 6 bestand der erste Wurf nur aus Weibchen.

Die Hodengewichte der männlichen Nachkommen dieser vier Paare sind in Abb. 9 wiedergegeben. Im mittleren Hodengewicht unterschieden sich die in der Langtagsphase geborenen Jungen (Würfe III und IV) nicht von dem Erwartungswert (Con 23-27; LD 16:8). Ebenso unterschieden sich weder die Würfe I und II noch die in der zweiten Kurztagsphase ge-

borenen Würfe V, VI und VII im mittleren Hodengewicht von dem entsprechenden Kurztagserwartungswert (Con 23-27; LD 8:16). Jedoch war ein Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen statistisch sicherbar (U-Test: $P < 0,05$). Die während der ersten Kurztagsphase geborenen Jungen hatten im Mittel signifikant schwerere Hoden als die während der zweiten Kurztagsphase geborenen. Beide Gruppen hatten aber hoch signifikant leichtere Gonaden als die während der Langtagsphase geborenen Jungen.

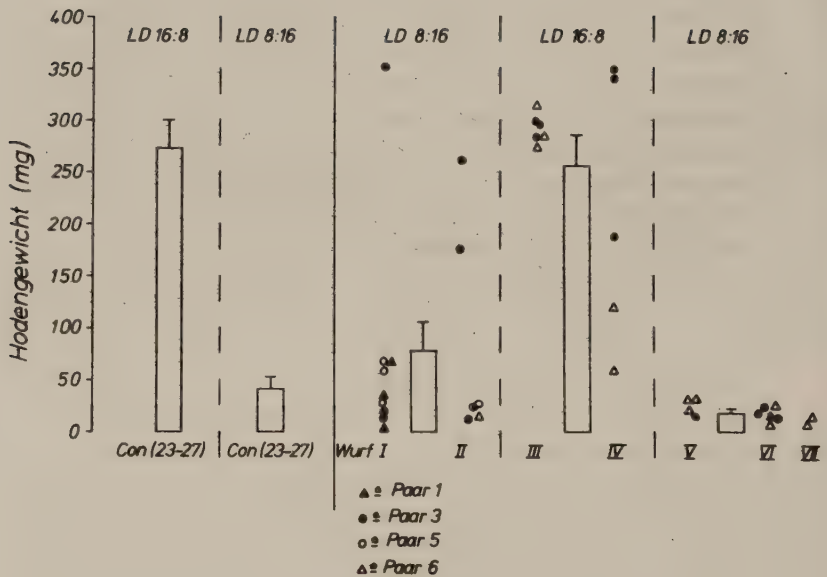


Abb. 9 Gepaarte Hodengewichte im Alter von 25 Tagen der Nachkommen von 4 Zuchtpaaren, die zunächst im Kurztag sich photoperiodisch indifferent verhielten (Würfe I und II), dann in lange Photoperioden gebracht wurden (Würfe III und IV), und anschließend nach erneuter Kurztagsexposition ihre Fortpflanzungsaktivität einstellten (Würfe V, VI und VII). Die Säulen geben jeweils den Mittelwert (SE) für die drei verschiedenen Phasen wieder. Als Erwartungswerte (Con 23-27) sind die mittleren Hodengewichte (+SE) der Nachkommen von Elterntieren aus dem Naturtag angegeben, die von Geburt bis zum Alter von 23-27 Tagen im Lang- bzw. Kurztag aufgewachsen waren.

Einsetzen der Geschlechtsreife bei männlichen Hamstern unter natürlichen Photoperioden in Abhängigkeit vom Geburtsdatum

Während der gesamten Fortpflanzungszeit, von März bis Oktober, wurden in halbmonatigen Abständen jeweils Tiere im Alter von 35 Tagen getötet und deren Hodenentwicklungszustand bestimmt, um zu sehen, ab wann im Frühjahr ein beschleunigtes Gonadenwachstum einsetzt und ab wann im Spätsommer eine Unterdrückung der Entwicklung erfolgt. Dabei wurde zusätzlich die Frage der kritischen Photoperiode gestreift, der Unterscheidungsgrenze zwischen Lang- und Kurztag, und untersucht, ob für die photoperiodische Reaktion auch die Änderungsrichtung der Photoperiode entscheidend ist, ob sie zunehmend oder abnehmend ist.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 10 graphisch dargestellt. Bei den ersten Mitte März geborenen Tieren war mit 35 Tagen schon eine deutliche Gonadenentwicklung festzustellen, jedoch waren sie mit einem mittleren Hodengewicht von etwa 350mg noch nicht geschlechtsreif. Mit sich verlängernder Photoperiode stieg der Mittelwert an, und bei den im Mai und Juni geborenen Jungtieren waren mit 35 Tagen die Hoden voll entwickelt. Die beiden Tiere aus der Gruppe Mitte Mai, die mit 35 Tagen noch sehr kleine Gonaden aufwiesen, sind als Ausreißer anzusehen, wie auch der Einbruch im Kurvenverlauf der Mittelwerte zeigt. Bei den im Juli geborenen Männchen waren bereits erste Anzeichen einer Pubertätsverzögerung festzustellen. Alle Tiere, die im September geboren wurden, als die Photoperiode 12,5 Stunden oder weniger betrug, wiesen eine Hodengröße auf, wie sie auch bei Tieren gefunden wurde, die von Geburt an im Kurztag mit 8 Stunden Licht pro Tag aufgewachsen waren.

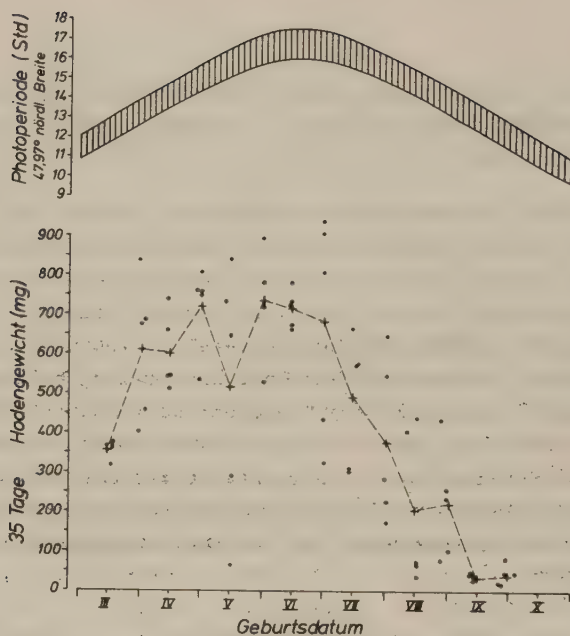


Abb. 10 Gepaarte Hodengewichte im Alter von 35 Tagen in Abhängigkeit vom Geburtsdatum

Während der gesamten Fortpflanzungszeit, von März bis Oktober, wurde in halbmonatigen Abständen das Hodengewicht von Jungtieren im Alter von 35 Tagen bestimmt. Es wurde darauf geachtet, dass in einer Gruppe die Tiere aus verschiedenen Würfen stammten. Die durch die Hilfslinie verbundenen Kreuze geben die Mittelwerte der einzelnen Gruppen wieder. Im oberen Abschnitt ist die Photoperiode für Erling-Andechs während dieser Zeit dargestellt, gemessen nach Sonnenauf- und untergang einschließlich der bürgerlichen Dämmerung.

Diskussion:

Beim Dsungarischen Zwerghamster *Phodopus sungorus* ist das Einsetzen der Geschlechtsreife photoperiodisch kontrolliert, wobei lange Photoperioden das Gonadenwachstum stimulieren, während kurze Photoperioden es hemmen. Dies gilt sowohl für Männchen wie auch für Weibchen. Bei männlichen Tieren sind die Effekte jedoch deutlicher ausgeprägt. Neben dem Wachstum der Geschlechtsorgane ist auch die Entwicklung des Körpergewichts photoperiodisch beeinflusst. Die Tiere im Langtag entwickeln sich stetig bis sie das Sommergewicht der Alttiere erreicht haben. Die Jungen im Kurztag dagegen entwickeln sich zunächst nur bis zu dem Wintergewicht der Adulten, verharren dort und erreichen erst sehr viel später das Sommergewicht. Eine photoperiodische Steuerung ist auch für das Wachstum des braunen Fettgewebes (Trampacz, 1977) sowie für die nach dem Jugendkleid angenommenen Fellfärbung gezeigt worden (Hoffmann, im Druck). Diese Befunde belegen, daß die Photoperiode nicht spezifisch die Geschlechtsreife steuert, sondern generell die Jugendentwicklung beeinflusst. Diese Regulation bewirkt, daß die Jungtiere unter langen Photoperioden sich direkt zu der fortpflanzungsfähigen, dem Sommer angepassten Form entwickeln, während die Jungtiere unter kurzen Photoperioden zunächst die dem Winter angepasste Form annehmen.

Ein Unterschied in der Gonadenentwicklung beginnt sich etwa ab dem zehnten Lebenstag abzuzeichnen. Da bis dahin die Hodenentwicklung unter beiden Bedingungen identisch ist, kann man vermuten, daß bis zu diesem Alter die Entwicklung der Tiere photoperiodisch unabhängig ist. Ein Unterschied in der Entwicklung der akzessorischen Drüsen läßt sich erst später nachweisen, was auf deren Androgenabhängigkeit zurückzuführen ist.

Die Versuche mit Änderungen der Photoperioden zu verschiedenen Altersstufen zeigen, daß die präpubertale photoperiodische Reaktion nicht einer Prägung vergleichbar ist. Anfänglicher Aufenthalt in den ersten 7 oder 14 Lebenstagen unter langen Photoperioden schien keinen Einfluß auf die Gonadenentwicklung zu haben, wenn die Tiere anschließend in den Kurztag gesetzt wurden. Sie unterscheiden sich mit 40 Tagen in ihrem mittleren Hodengewicht nicht von Tieren, die von Geburt an unter kurzen Photoperioden gelebt haben. Bei den Männchen aber, die bis zum 21. Lebenstag im Langtag aufwuchsen, hat offensichtlich eine Stimulation der Gonaden stattgefunden, wobei jedoch die Entwicklung durch die anschließenden kurzen Photoperioden wieder gestoppt wurde. Bei den Hamstern, die umgekehrt zunächst 7 Tage kurze Photoperioden hatten, ist ebenfalls kein Unterschied zu den Tieren festzustellen, die von Geburt an im Langtag aufgezogen wurden. Bei den Männchen, die anfänglich 14 oder 21 Tage kurzen Photoperioden ausgesetzt waren, hat während dieser Zeit eine Unterdrückung des Gonadenwachstums stattgefunden, die dann aber durch den anschließenden Langtagsaufenthalt wieder aufgehoben worden ist. Sie haben mit 40 Tagen leichtere Hoden als die Langtagskontrollen. Die Befunde zeigen, daß die Tiere in ihrer Ontogenese nicht eine spezifische zeitlich begrenzte sensible Phase haben, während der sie die Tageslänge messen und dann die entsprechende Entwicklungsrichtung einschlagen. Sie messen vielmehr, wenn sie erst einmal dazu in der Lage sind, kontinuierlich die Photoperiode, und die eingeschlagene Richtung kann auch wieder umgekehrt werden. Diese Umkehrung kann in beide Richtungen erfolgen, von Stimulation nach Inhibition und vice versa.

Gegen die Annahme, daß ein Gonadenwachstum ausschließlich nur unter langen Photoperioden stattfindet, spricht der

Befund, daß die Männchen, die zunächst 21 Tage im Kurztag lebten, mit 40 Tagen, also nach nur 19 Langtagen, signifikant schwerere Hoden hatten als Männchen, die nach 21 Langtagen noch 19 Tage im Kurztag gelebt hatten. Die Abb. 11 vergleicht die Hodengewichte aus diesem Versuch mit der Hodengewichtsentwicklungskurve im Langtag, wobei bei den verschiedenen Gruppen jeweils nur die Aufenthaltstage unter langen Photoperioden zugrundegelegt wurden. Die Tiere, die zunächst im Langtag waren, weisen mit 40 Tagen noch das Hodengewicht auf, was sie gemäß der zu erwartenden Entwicklung im Langtag beim Wechsel der photoperiodischen Bedingungen erreicht hatten. Die aus den drei Mittelwerten gebildete Kurve (7, 14, 21 Langtage) ist deckungsgleich mit der Kontrollkurve. Bei den Tieren, welche anfänglich im Kurztag lebten und erst nach 7, 14 oder 21 Tagen im Langtag umgesetzt wurden und mithin 33, 26 bzw. 19 Aufenthaltstage unter langen Photoperioden aufwiesen, ist nun die Kurve nicht deckungsgleich mit der Kontrollkurve sondern verläuft zu dieser um 10 Tage nach vorn verschoben. Dies bedeutet, daß bei all diesen Tieren während ihres anfänglichen Aufenthalts unter kurzen Photoperioden etwa 10 Tage lang eine Gonadenentwicklung stattgefunden hat. Die Hoden waren bei ihnen bereits vorentwickelt, als sie schließlich in den stimulierenden Langtag gebracht wurden. Dieses Ergebnis zusammengekommen mit dem Befund, daß die Photoperiode in den ersten 7 Tagen keinen Einfluß auf das Hodengewicht mit 40 Tagen hat, bestätigt die Annahme, daß die Hamster in den ersten 10 Lebenstagen gegenüber der Photoperiode unempfindlich sind. Eine weitere Unterstützung erhält diese Annahme durch die Befunde bei der Untersuchung der postnatalen Entwicklung des Pinealorgans,

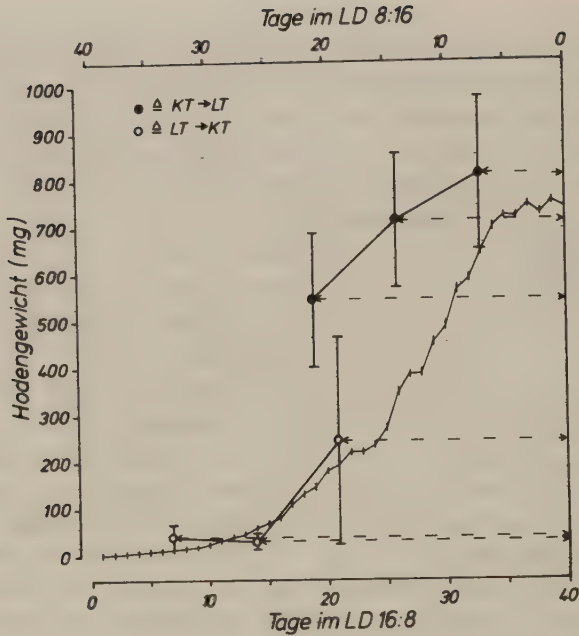


Abb. 11 Vergleich der Hodengewichte (MW+SD) nach 40 Tagen mit der Hodenentwicklungskurve im Langtag Für die einzelnen Gruppen sind jeweils nur die Aufenthaltstage im Langtag (LD 16:8) zugrundegelegt. Die zusätzlichen Aufenthaltstage im Kurztag (LD 8:16) bis zum Alter von 40 Tagen sind aus der oberen gegenläufigen Abszisse zu entnehmen. Die durch die Kreise symbolisierten Gruppen (LT-KT) waren nach der Geburt zunächst unterschiedlich lange langen Photoperioden ausgesetzt und dann in den Kurztag gebracht worden. Dagegen hatten die durch die Punkte symbolisierten Gruppen (KT-LT) zunächst im Kurztag gelebt und anschließend im Langtag. Die durchgezogene Linie gibt die Hodenentwicklung von Tieren wieder, die von Geburt ausschließlich im Langtag lebten (s.a. Abb. 2)

dem eine besondere Bedeutung bei der photoperiodischen Übertragung zukommt (s. Abschnitt III).

Da beim Dsungarischen Hamster auch die adulten Tiere sehr stark photoperiodisch reagieren, ist vornehmlich bei den Experimenten mit artifiziellen Photoperioden die Möglichkeit in Erwägung zu ziehen, daß die Jungtiere zunächst nicht selbst die Photoperiode messen, sondern sich an der photoperiodischen Reaktion der Eltern orientieren. Wie das zu diesem Problem unternommenen Experiment zeigt, haben die Jungtiere, die in der ersten Kurztagsphase geboren wurden, als sich ihre Eltern photoperiodisch indifferent verhielten, im Mittel signifikant schwerere Hoden als die Jungtiere, die in der zweiten Kurztagsphase geboren wurden, als die Eltern wieder auf die kurzen Photoperioden reagieren konnten. Daher muß ein Einfluß der elterlichen photoperiodischen Reaktion auf die frühe präpubertale photoperiodische Reaktion in Betracht gezogen werden, bzw. ein solcher kann nicht ausgeschlossen werden. Da sich beide Gruppen jedoch hoch signifikant in ihrem mittleren Hodengewicht von der Gruppe unterscheiden, die während der Langtagsphase geboren wurden, kann dieser mögliche Einfluß bei den beschriebenen Versuchen vernachlässigt werden.

Wie die Hodengewichte der Hamster zeigen die unter natürlicher Photoperiode aufgewachsen waren, entwickelten sich die Gonaden der zu Beginn der Fortpflanzungsperiode geborenen Tiere zunächst langsam. Bis zum Sommerbeginn zeigten die dann geborenen ein immer rascher werdendes Wachstum. Erste Anzeichen einer Entwicklungsverzögerung waren bereits bei Mitte Juli geborenen Tieren festzustellen; alle im September oder später geborenen Männchen zeigten die aus dem Kurztag bekannte Entwicklung. Ihre Hoden blieben klein und inaktiv; sie dürften erst zu Beginn der nächsten Fortpflanzungsperiode geschlechtsreif werden.

Beim Goldhamster wurde eine kritische Photoperiode von 12,5 Stunden gefunden. (Gaston u. Menaker, 1968). Oberhalb dieser Schwelle wirkt eine Photoperiode als Langtag und unterhalb dieser als Kurztag. Beim Dsungarischen Hamster darf man eine ähnliche Unterscheidungsgrenze zwischen langer und kurzer Photoperiode annehmen. Die natürliche Photoperiode unterschreitet diese Grenze auf unserer Breite (48°) etwa Anfang September. Die nach diesem Zeitpunkt geborenen Jungtiere zeigten auch ein Verhalten wie im Kurztag. Die Tiere, die Mitte März geboren wurden, also bei einer kürzeren Photoperiode als 12,5 Stunden, überschreiten im Verlaufe ihrer Entwicklung jedoch diese Schwelle, und bei ihnen ist auch eine entsprechende Gonadenentwicklung festzustellen. Vergleicht man nun jeweils die Frühjahrs- und die Herbstgruppen miteinander, die vom 10. bis zum 35. Lebenstag etwa die gleiche Spanne der photoperiodischen Änderung durchlaufen haben, so zeigt sich, daß oberhalb der kritischen Photoperiode zusätzlich entscheidend zu sein scheint, in welche Richtung sich die Photoperiode ändert, ob die Tageslänge zunehmend oder abnehmend ist. In Tab.1 ist für jede Halbmonatsgruppe neben dem mittleren Hodengewicht, die Photoperiode mit zehn Tagen und mit 35 Tagen aufgeführt. Dieser Bereich wurde gewählt, da die Tiere erst im Alter von etwa 10 Tagen auf die Photoperiode reagieren, und das Hodengewicht im Alter von 35 Tagen bestimmt wurde (s.a. Abb. 11). Die um den 15. 3. geborenen Männchen haben signifikant schwerere Hoden als die um den 15. 8. geborenen Jungen (Lord Test $p < 0,05$). In die gleiche Richtung weisen die Unterschiede zwischen den um den 1.4. und um den 1.8. geborenen Jungtieren sowie zwischen den 15.4. und den um den 15.7. geborenen Hamstern (Lord Test jeweils $p < 0,1$).

Datum: Geburt	Datum: 35.Tag	Photop. 10.Tag	Photop. 35.Tag	Hodengew. $\bar{x}$
15.3.	20.4.	12,28	13,76	356,9mg
1.4.	5.5.	13,20	14,56	611,0mg
15.4.	20.5.	14,04	15,22	600,0mg
1.5.	5.6.	14,80	15,72	719,8mg
15.5	20.6.	15,42	15,90	513,9mg
1.6.	5.7.	15,82	15,74	733,7mg
15.6.	20.7.	15,88	15,28	714,8mg
1.7.	5.8.	15,62	14,58	681,3mg
15.7.	20.8.	15,08	13,78	485,8mg
1.8.	5.9.	14,32	12,88	375,1mg
15.8	20.9.	13.50	12.02	205,4mg
1.9.	5.10.	12.60	11,14	221,0mg
15.9.	20.10.	11,72	10,30	37,9mg

Tab.1

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Jugendentwicklung beim Dsungarischen Hamster *Phodopus sungorus* durch die Photoperiode beeinflußt wird, was sich besonders deutlich an der Entwicklung der Geschlechtsorgane verfolgen läßt. Lange Photoperioden wirken stimulierend auf das Wachstum, während kurze Photoperioden es hemmen. Dies gilt sowohl für weibliche wie auch für männliche Jungtiere. Bis zum Alter von etwa 10 Tagen sind die Tiere noch unempfindlich gegenüber der Photoperiode. Sind die Tiere erst einmal in der Lage, die Tageslänge zu bestimmen, so messen sie kontinuierlich und nicht nur während einer zeitlich begrenzten sensiblen Phase. Die jeweils eingeschlagene Entwicklungsrichtung ist auch wieder umkehrbar, und zwar in beide Richtungen. Die kritische Photoperiode kann mit etwa 12,5 Stunden angenommen werden.

Oberhalb dieser Schwelle scheint jedoch zusätzlich auch die Änderungsrichtung der Photoperiode von Bedeutung zu sein. Ein Einfluß der elterlichen photoperiodischen Reaktion auf die präpubertale Entwicklung der Jungen kann nicht ausgeschlossen werden, jedoch ist dieser bei den beschriebenen Versuchen vernachlässigbar.

Abschnitt II

Der physiologische Mechanismus der photoperodischen Reaktion

Einführung:

Es darf als gesichert angesehen werden, daß das Pinealorgan (Epiphysis cerebri) in die Übertragung von photoperiodischen Informationen auf die hypothalamo-hypophysäre Achse eingeschaltet und damit an der Regulation verschiedener Körperfunktionen beteiligt ist (Wurtman u.a. 1968; Reiter 1973). In erster Linie wird ihm eine Rolle bei der Übertragung der Wirkung kurzer Photoperioden zugesprochen. Da bei vielen Kleinsäugetern die auffälligste Kurztagsreaktion die Regression der Gonaden ist, wurde das Pineal in vereinfachender Weise als antigonadotroph wirkendes Organ bezeichnet (Cardinali u. Rosner 1971; Reiter 1975). Es ist jedoch bei verschiedenen Spezies gezeigt worden, daß das Pinealorgan auch an der Übertragung stimulierend wirkender langer Photoperioden beteiligt ist, also auch progonadotrophe Wirkung hat (Herbert 1971; Hoffmann u. Küderling 1975).

Beim Säuger ist das Pineal ein rein sekretorisches Organ mit endokriner Funktion. Die charakteristischen Zellen sind die Pinealocyten, die gekennzeichnet sind durch einen hohen Gehalt an Serotonin (Bertler u.a. 1964). Das Serotonin ist das Substrat für die Synthese des Melatonins, das als das Pinealhormon angesehen wird. Die Synthese erfolgt in zwei Schritten über die Enzyme N-acetyltransferase (NAT) und Hydroxy-indol-O-methyltransferase (HIOMT), wobei als das limitierende Enzym die NAT gilt (Quay 1974). Die NAT zeigt eine ausgeprägte Tagesperiodik mit minimaler Aktivität während der Lichtzeit, Anstieg der Aktivität mit Einsetzen der Dunkelzeit und einem Maximum gegen Ende der Nacht (Klein 1973). Unterbrechung der Dunkelzeit mit kurzen Licht-

blitzen führte zu einem rapiden Abfall der NAT-Aktivität (Klein u. Weller 1972). Bei Tieren, die im Dauerdunkel gehalten wurden, blieb eine freilaufende circadiane Rhythmik der NAT-Aktivität bestehen. Dies war auch der Fall, wenn die Tiere beidseitig enukleiert wurden oder, wenn ihnen die Nervi optici durchtrennt wurden. Ausschaltung der primären oder der akzessorischen optischen Trakte hatte keinen Einfluß auf die Synchronisierbarkeit der NAT-Rhythmik mit dem Licht-Dunkelwechsel (Ralph u.a. 1971; Moore u. Klein 1974). Die so behandelten Tiere reagierten mit Gonadenregression auf den Kurztag (Reiter 1975). Bei den Tieren dagegen, denen der Nucleus suprachiasmaticus zerstört wurde oder bei denen das Pineal denerviert wurde durch Herausnahme der oberen Halsganglien, war eine Rhythmik der NAT-Aktivität nicht mehr festzustellen. Die Aktivität blieb konstant auf dem niedrigen Lichtzeitniveau (Klein u.a. 1972; Moore u. Klein 1974). Nach diesen Operationen zeigten die Tiere keine Reaktion auf kurze Photoperioden mehr (Farrar u. Clarke 1976; Rusak u. Morin 1976). Aus diesen Befunden läßt sich der Weg rekonstruieren, über den die photoperiodische Information das Pinealorgan erreicht und in seiner Funktion beeinflusst. Die Photoperiode steuert über die Retina und die Nervi optici als Teil einer retino-hypothalamischen Projektion einen im Nucleus suprachiasmaticus lokalisierten Oscillator, wobei die primären und akzessorischen optischen Trakte umgangen werden. Dieser Oscillator reguliert über das obere Halsganglion und von dort über die Nervi coronarii in den Pinealocyten die Aktivität der NAT, wobei die nervöse Verbindung zwischen dem Nucleus suprachiasmaticus und dem oberen Halsganglion noch nicht eindeutig geklärt ist.

Das Pineal beeinflusst die hypothalamo-hypophysäre Achse mittels humoraler Faktoren, wobei das Melatonin das bislang am meisten untersuchte Hormon ist. Für das Melatonin werden in erster Linie antigonadotrope Wirkungen beschrieben

(Reiter u.a. 1975), jedoch wurden auch progonadotrophe Effekte gefunden (Hoffmann 1974, Turek u.a. 1975), außerdem wird von Versuchen berichtet, bei denen nach Melatoninbehandlung keine meßbaren Effekte auftraten.

Die durch Melatoningaben erzielten Wirkungen scheinen abhängig zu sein von verschiedenen Faktoren. (1) Drastische Effekte sind nur bei Tieren zu erzielen, die photoperiodisch reagieren (Turek u.a. 1976). (2) Die Melatoninwirkung ist abhängig von der Dosis und von der umgebenden Photoperiode während der Versuche. Um im Langtag eine Regression der Gonaden hervorzurufen, mußte eine bestimmte Dosis vom Melatonin überschritten werden. Unter kurzen Photoperioden hatte eine geringere Menge implantierten Melatons keine Wirkung. Die Tiere zeigten eine Rückbildung der Geschlechtsorgane. Mit ansteigender Dosis wurde dieser Effekt umgekehrt, und die Tiere behielten aktive Gonaden trotz Kurztagsbedingungen. Bei weiterer Steigerung der Dosis trat wieder die gewohnte Kurztagsreaktion mit Gonadenregression ein (Turek u.a. 1975). (3) Möglicherweise im Zusammenhang steht die saisonale Abhängigkeit der Melatoneffekte. Während bei Hamstern, die das ganze Jahr über unter natürlicher Photoperiode gehalten wurden, im Mittwinter und Spätsommer antigonadotrophe Effekte nach Melatoninimplantierung gefunden wurden, verhinderte dieselbe Behandlung im Mittsommer die Regression der Gonaden, die bei Kontrollen durch kurze Photoperioden induziert wurde, hatte hier also progonadotrophe Wirkung (Hoffmann 1974, Küderling 1976). (4) Weiterhin haben Untersuchungen gezeigt, daß die Sensitivität des Organismus gegenüber Melatonin einer circadianen Schwankung unterliegt. Bei Goldhamstern in langen Photoperioden hatten Melatonininjektionen in der ersten Hälfte der Lichtzeit keine Wirkung, während sie gegen Ende der Lichtzeit zu einer Rückbildung der Gonaden führten (Bridges u.a. 1976, Tamarkin u.a. 1976) Nach chronischer Me-

latoninimplantierung waren auch späte Melatonininjektionen wirkungslos. Dies war auch der Fall bei pinealektomierten Tieren (Reiter u.a. 1976). Da antigonadotrophe Substanzen auch im melatoninfreien Pinealextrakt gefunden wurden - diskutiert werden in diesem Zusammenhang Peptide wie das Arginin-Vasotocin (Benson u.a. 1976; Vaughan u.a. 1976) - und über die Rezeptoren des Melatonins und deren Lokalisation nichts bekannt ist, führte der letztgenannte Befund zu der Vermutung, daß das Melatonin seine Wirkung im Pineal selbst hat. Auf bisher unbekannte Weise soll es die Synthese oder die Ausschüttung der eigentlich antigonadotropen Pinealsubstanzen regulieren, wie etwa die der Peptide. Dagegensprechende Resultate wurden beim Goldhamster und beim Dsungarischen Hamster gefunden (Turek 1977; Hoffmann u. Küderling 1977). Hier behielten Melatoninimplantate ihre antigonadotrophe Wirksamkeit auch nach Pinealektomie.

Die Abhängigkeit der Melatoninwirkung von verschiedenen Faktoren, sowie die Tatsache, daß alle experimentellen Eingriffe, die zu einem Verlust der photoperiodischen Reaktion führen, auch die cyclische Melantoninsynthese unterdrücken, führen zu der Annahme, daß Melatonin nicht ein antigonadotropes Hormon an sich ist, sondern eher als Überträgerstoff photoperiodischer Informationen dient. Diese Annahme wird weiter gestützt durch die Befunde, daß nicht nur die Gonaden, sondern auch andere Körperfunktionen wie das Wachstum des braunen Fettgewebes (Heldmeier u. Hoffmann 1974; Trampacz 1977), der Wechsel ins Winterfell (Hoffmann 1973; Rust u. Meyer 1969) oder die Länge des Winterschlafes (Palmer u. Riedesel 1975) durch Melatonin beeinflusst werden können.

Die bisher aufgeführten Fakten stützen sich ausschließlich auf Befunde, die an adulten Tieren erhoben wurden. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ergab sich nun die

Frage, ob der gleiche physiologische Mechanismus, der an der photoperiodischen Kontrolle der Jahresperiodik beteiligt ist, auch in die photoperiodische Regulation der Geschlechtsreifung beim Jungtier eingeschaltet ist. In verschiedenen Experimenten wurde geprüft, ob bei praeadulten Hamstern das Pineal an der Übertragung der kurzen Photoperioden beteiligt ist und ob es auch eingeschaltet ist in die Stimulation des Gonadenwachstums durch lange Photoperioden. Daneben wurde der Frage nachgegangen, ob auch beim Jungtier die photoperiodische Informationen über das obere Halsganglion, das Ganglion cervicale superior, an das Pineal weitergeleitet werden. Schließlich dienten Experimente mit Melatoninimplantaten der Frage, ob Melatonin als wirksame Substanz bei der Unterdrückung des Gonadenwachstums agiert.

Methodik:

Unter natürlicher Photoperiode geborene Jungtiere wurden innerhalb von 48 Std. nach der Geburt zusammen mit ihren Eltern in den Kurz- oder Langtag gebracht. Zum Operationstermin wurden jeweils immer die geschlossenen Würfe von den Eltern getrennt und nach Möglichkeit alle Jungtiere des Wurfes behandelt. Zu Beginn der Versuche wurden die Tiere auch einzeln aus dem Nest entnommen oder nur einzelne Tiere des Wurfes operiert. Dann gab es in der Regel erhebliche Schwierigkeiten beim Wiederannehmen des Jungen durch die Alttiere. Alle Operationen wurden unter Halothan (Hoechst) Anaesthesie durchgeführt. Zur individuellen Kennzeichnung wurden die operierten Tiere an den Zehen markiert. Da die Jungtiere während der Operation erheblich auskühlten, wurden sie im Anschluß an die Operation unter einer Rotlichtlampewieder aufgewärmt. Erst nachdem alle Tiere operiert und wieder aufgewärmt waren, wurde der Wurf geschlossen in das Nest zu den Alttieren zurückgesetzt. Dies war spätestens zwei Stunden nach der Entnahme der Fall. Anschließend wurden die Tiere in die Photoperiode zurückgebracht, der sie vorher ausgesetzt waren.

Im Alter von 21 Tagen wurden die Würfe abgesetzt. Die Versuchstiere wurden weiter unter derselben Photoperiode in Einzelkäfigen gehalten und mit 45 Tagen getötet. Dieser Zeitpunkt erschien geeignet, da in dem Alter alle unbehandelten Tiere im Langtag geschlechtsreif sind, während die Tiere im Kurztag zu dieser Zeit auf der minimalen Entwicklungsstufe verharren. Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit der Gonaden sollten sich also gerade zu diesem Alter besonders deutlich darstellen lassen.

Bei Versuchsende wurden die Tiere mit Halothan (Hoechst) betäubt, gewogen und durch Herzpunktion entblutet. Als Parameter der sexuellen Entwicklung wurden beim weiblichen Tier das Gewicht des Uterus und der Ovarien sowie die Zahl der Graaf'schen Follikel im Ovar herangezogen. Beim männlichen Tier dienten dazu die Gewichte der Hoden, der accessorischen Geschlechtsdrüsen und der ventralen Markierdrüse, einer modifizierte Talgdrüse auf der Bauchseite, die in ihrer Größe einen deutlichen, vom Testosteron abhängigen Jahresgang zeigt.

Pinealektomie:

Die Operation wurde an Jungtieren beiderlei Geschlechts im Alter von zwei Tagen vorgenommen, als sie ein Körpergewicht von etwa 3,5g erreicht hatten. Wenn die Pinealektomie mit Melatoninimplantierung kombiniert wurde, erfolgte die Operation bei einem Alter von sechs Tagen.

Das zur Operation betäubte Tier wurde in Bauchlage unter der Stereolupe fixiert. Die Kopfhaut wurde median in sagittaler Richtung etwa 0,7 cm lang gespalten vom Ansatz der Halsmuskeln bis etwa zur Verbindungslinie der Orbitae. Durch die noch knorpelige Kopfkapsel wurden dann die Transversalsinus und der Sagittalsinus sichtbar. Unter deren Zusammenflußstelle ist das Pinealorgan oberflächlich lokalisiert. Es ist über einen langen Stiel, der für viele Nager typisch ist, mit dem Epithalamus verbunden. Um diese Stelle wurde mit dem Thermokauter eine Zunge mit breiter rostraler Basis in die Kopfkapsel geritzt. Mit einem Irismesser wurde dann entlang dieser Einritzung die Kopfkapsel eröffnet und die Zunge nach rostral geschlagen. Mit einer feinen Hakenpinzette wurde neben den Gefäßen die Dura mater durchstoßen, unterhalb der Zusammenflußstelle das Pineal ergriffen und herausgezogen. Dabei zerrissen häufig

die Blutgefäße. Die Blutung war aber in der Regel durch Auflegen eines kleinen Tupfers sehr schnell gestillt. Die Knorpelzunge wurde nun wieder über die Öffnung gelegt, die Wunde mit Antibiotikapuder bestäubt und der Hautschnitt durch zwei U-Hefte mit einem Seidenfaden verschlossen. Etwaige auf der Haut verbliebene Blutreste wurden sorgfältig mit physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen. Scheinoperationen zur Methodenkontrolle wurden in derselben Weise durchgeführt mit Ausnahme der tatsächlichen Pinealentfernung.

Zur ersten Kontrolle des Operationserfolges wurde die Vollständigkeit des herausgenommenen Pinealkörpers und Stieles unter dem Mikroskop geprüft. Zur endgültigen Kontrolle wurden nach Beendigung der Versuche die Hirne aller Versuchstiere in Bouin fixiert, in Paraplast eingebettet und sagittale Serienschnitte angefertigt. In die weitere Auswertung gelangten nur die Tiere, bei denen nach Pinealektomie keine Organreste bei der mikroskopischen Durchmusterung der Schnitte zu finden waren bzw. bei denen nach der Scheinoperation ein vollständiges Pineal mit Stielverbindung zu sehen war.

Ganglionektomie:

Der technisch frühest mögliche Termin für die Extirpation des Ganglion cervicale superior war das Alter von 10 Tagen. Die Tiere hatten dann ein Körpergewicht von etwa 6,5g. Der betäubte Hamster wurde in Rückenlage mit gespreizten Extremitäten unter der Stereolupe fixiert. Der Hautschnitt wurde median proximal vom Sternum etwa 1,5cm cranial geführt. Das die Halsregion ausfüllende braune Fettgewebe wurde mit zwei Pinzetten stumpf getrennt. Ebenso wurde mit dem Bindegewebe lateral der Trachea verfahren bis die Arteria carotis sichtbar wurde. Das Gefäß wurde mit einer

stumpfen Pinzette erfaßt und leicht angehoben. Das am Gefäß befindliche Bindegewebe wurde unter Schonung des Nervus vagus von caudal nach cranial abpräpariert bis zur Aufzweigung der Arterie in die Arteria carotis interna und externa. Medial dieser Aufzweigungsstelle wurde dann das obere Halsganglion sichtbar. Es wurde mit einer spitzen Pinzette erfaßt und als Ganzes herausgezogen. Nach Reposition der dislozierten Fettkörper wurde die Wunde mit Antibiotikapuder bestäubt und der Hautschnitt durch zwei bis drei U-Hefte mit einem Seidenfaden verschlossen. Scheinoperationen erfolgten in der gleichen Weise mit Ausnahme der eigentlichen Extirpation des Ganglions. Als Bestätigung, daß beide Ganglien entfernt waren, wurde das Auftreten eines beidseitigen Hängelides angesehen. Zur zusätzlichen Kontrolle wurde nach Versuchsende erneut die Halsregion eröffnet und auf verbliebene Ganglienreste untersucht. Zur weiteren Auswertung wurden nur Daten der Männchen verwandt, bei denen keinerlei Hinweise auf verbliebene Ganglienreste gefunden wurden.

Melatoninimplantierung:

Als Träger für das Melatonin wurden Silastic-Schläuche (DOW Corning Cat. Nr. 602-235) verwandt, von denen bekannt ist, daß von ihnen eine pro Zeiteinheit konstante Menge Melatonin proportional zur Länge des Schlauches abgegeben wird (Turek et al. 1975). Die für Jungtiere geeignete Größe hat einen äußeren Durchmesser von 2mm und einen inneren Durchmesser von 1,5mm. Die Schläuche wurden mit kristallinem Melatonin (Sigma) gefüllt und die Enden mit Tropfen von Elastomer (DOW Corning) verschlossen. Nach dem Füllen wurden sie mit 70% Alkohol gewaschen und anschließend für 4 Stunden bei 60°C getrocknet. In den Versuchen wurden

zur Dosisvariierung drei verschiedene Längen benutzt, 1cm, 2cm oder beide kombiniert zu 3cm. Als Placeboimplantate wurden leere Schläuche der gleichen Längen implantiert. Die Schläuche wurden männlichen Jungtieren im Alter von 6 Tagen implantiert. Dazu wurden die betäubten Tiere in Bauchlage fixiert. Durch einen etwa 4mm langen Hautschnitt lateral in der Lendenregion wurden die Implantate subcutan eingebracht, der Schnitt wurde mit einem versetzten doppelten U-Heft geschlossen. Es wurde darauf geachtet, daß Tiere eines Wurfes jeweils verschieden lange Melatonin- oder Placeboimplantate erhielten. Für die Auswertung wurden nur die Daten der Tiere verwandt, bei denen nach Versuchsende das komplette Implantat wiedergefunden wurde.

Ergebnisse:

Auswirkung der Pinealektomie bei männlichen Jungtieren im Kurz- und im Langtag

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 12 zusammengefaßt. Die zugehörigen Zahlenwerte sind in Tab. 1 und die Ergebnisse der statistischen Bearbeitung in Tab. 3 des Anhanges aufgeführt. Als Parameter der sexuellen Entwicklung sind die Gewichte der Hoden, der akzessorischen Drüsen sowie der ventralen Markierdrüsen bei den verschiedenen Gruppen wiedergegeben.

Bei den unbehandelten (Con) und scheinoperierten (SH) Hamstern waren im Langtag (LD 16:8) mit 45 Tagen die Hoden voll entwickelt. Sie hatten große akzessorische Drüsen und gut ausgebildete Markierdrüsen. Dagegen hatten die unbehandelten und scheinoperierten Kontrollen im Kurztag (Con, LD 8:16) in diesem Alter kleine Hoden und nur wenig entwickelte akzessorische Drüsen und Markierdrüsen. Nach Pinealektomie im Kurztag (Px) war die sexuelle Entwicklung signifikant beschleunigt im Vergleich zu den Kontrollen unter den gleichen Lichtbedingungen. Jedoch war sie auch signifikant verlangsamt im Vergleich zu Langtagskontrollen. Während ein Teil der scheinoperierten bzw. unbehandelten Kontrolltiere im Kurztag mit 45 Tagen begonnen hatte, nach dem Jugendkleid die Winterfärbung anzunehmen, wechselten die pinealektomierten Tiere im Kurztag vom Jugendkleid alle in die Sommerfärbung.

Im Langtag führte die Pinealektomie zu einer leichten, jedoch statistisch sicherbaren Verzögerung des Hodenwachstums. Diese Verzögerung war als Trend auch im Gewicht der akzessorischen Drüsen sowie der Markierdrüsen zu finden. Der Vergleich zwischen pinealektomierten Männchen im Lang- und Kurztag zeigte, daß die Tiere auch noch nach der Pinealektomie unter-

schiedlich auf lange oder kurze Photoperioden reagierten. Die pinealektomierten Tiere im Langtag hatten signifikant größere Hoden, weiter entwickelte akzessorische Drüsen und ausgedehntere Markierdrüsen als die gleich behandelten Tiere im Kurztag.

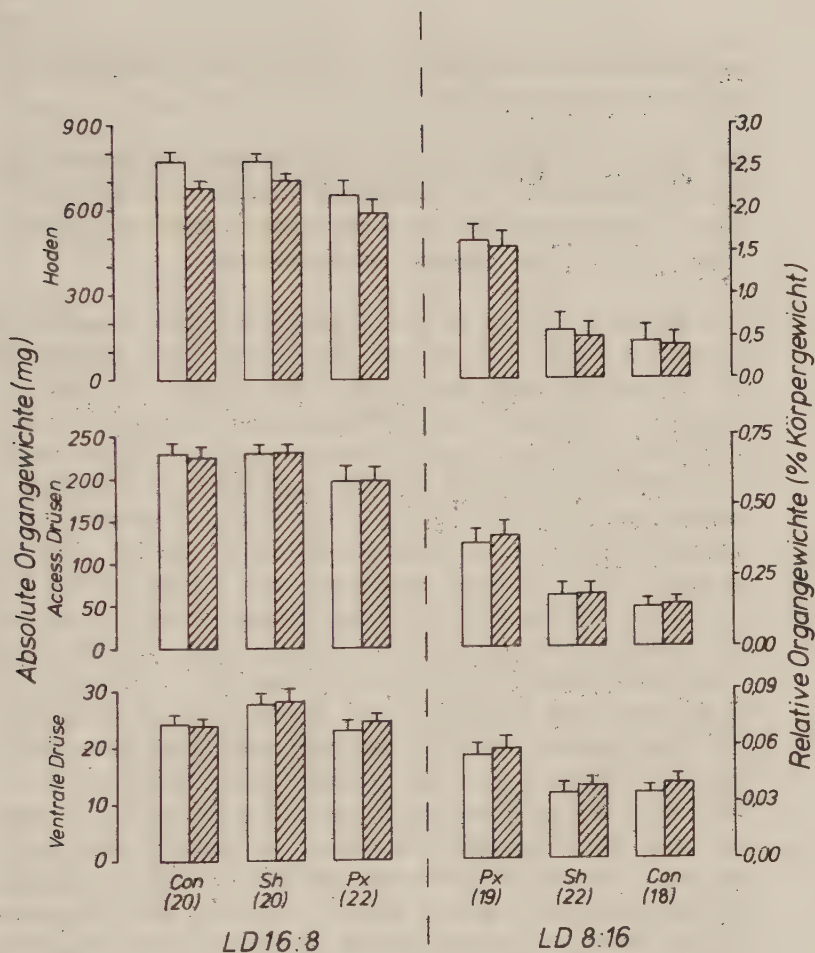


Abb. 12 Absolute und relative Organengewichte von Hamstern mit 45 Tagen. Die Tiere im Lang- (LD 16:8) bzw. Kurztag (LD 8:16) wurden im Alter von 2 Tagen pinealektomiert (Px) oder scheinooperiert (Sh). Zur Kontrolle wurde ein Teil der Tiere unbehandelt (Con) belassen. Angegeben sind für jede Gruppe die Mittelwerte mit mittlerem Fehler.

Auswirkung der Pinealektomie bei weiblichen Jungtieren im Kurz- und im Langtag

Die Ergebnisse dieser Versuch sind in Abb. 13 dargestellt. Die Zahlenwerte der verschiedenen Organgewichte sind in Tab. 2, die Ergebnisse der statistischen Diskriminanzanalyse in Tab. 4 des Anhangs wiedergegeben.

Die Weibchen zeigten im Uterusgewicht bei den Versuchen die gleiche Reaktion, wie sie bei Männchen gefunden wurden. Unter langen Photoperioden erfolgte ein rasches Wachstum, während dieses durch kurze Photoperioden verzögert wurde. Dagegen war das Gewicht der Ovarien kein deutlicher Parameter für den sexuellen Entwicklungszustand. Die Unterschiede wurden deutlicher, wenn die Zahl der Graaf'schen Follikel als Kriterium herangezogen wurde. Sowohl unbehandelte (Con) wie auch scheinoperierte Kontrollen (Sh) im Langtag hatten stark entwickelte Uteri, und ausnahmslos alle Ovarien wiesen Graaf'sche Follikel auf. Die Kontrolltiere im Kurztag dagegen hatten kleine Uteri, kleine Ovarien und nur weniger als 50% der Ovarien trugen mehr als 3 Graaf'sche Follikel. (Bei den scheinoperierten Weibchen im Kurztag wiesen von den anfänglich 16 Tieren 7 bei der histologischen Kontrolle kein intaktes Pineal mehr auf. Von den verbliebenen 9 Tieren stammen unglücklicherweise 3 aus Würfen, die nicht auf den Kurztag reagierten (siehe Abschnitt I dieser Arbeit). Dies mag den Unterschied zu den unbehandelten Kontrollen erklären). Die pinealektomierten (Px) Weibchen im Kurztag hatten schwerere Uteri als die Kontrollen, und bei ihnen wiesen mehr als 90% der Ovarien reife Follikel auf. Jedoch war auch bei ihnen, wie bei den Männchen, die sexuelle Entwicklung verzögert im Vergleich zu den Langtagskontrollen. Nach Pinealektomie war im

Langtag eine Verlangsamung des Wachstums der Uteri als Trend zu erkennen. Statistisch sicherbar war dagegen, daß die pinealektomierten Weibchen im Kurztag weniger weit entwickelte Follikel an den Ovarien hatten als die gleich behandelten Weibchen im Kurztag.

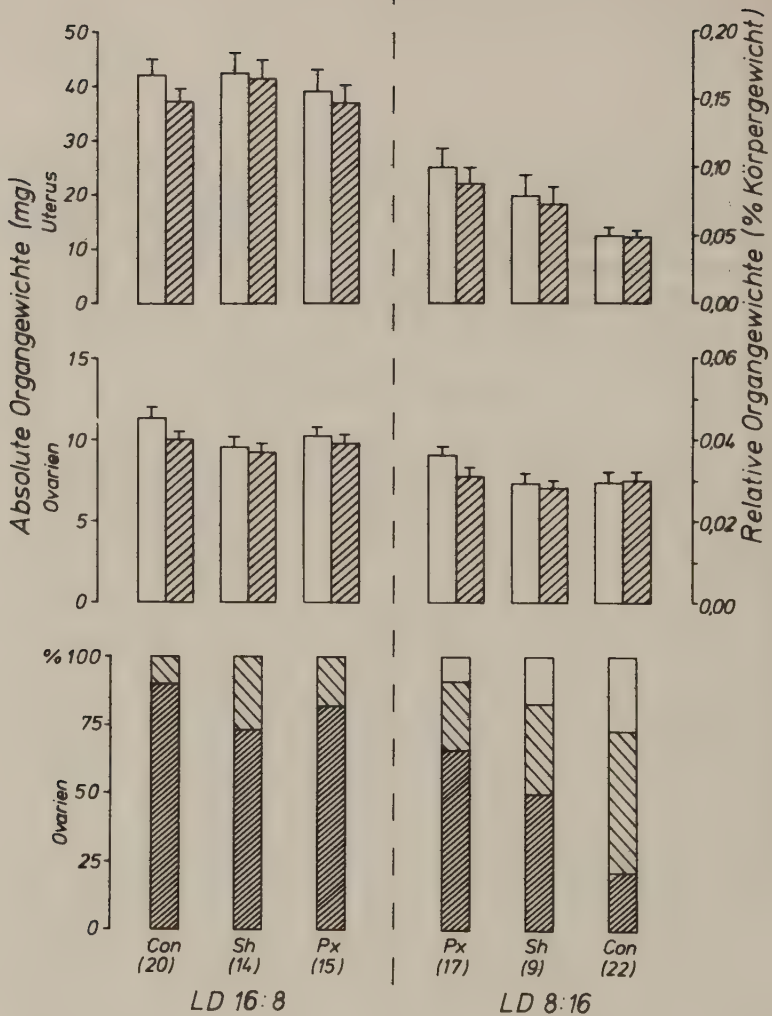


Abb. 13 Absolute und relative Organgewichte von weibl. Hamstern im Alter von 45 Tagen (MW±SE) im Lang- und Kurztag. Im unteren Teil der Abb. sind in Prozent die Zahl der Ovaridargestellt, die bei der histologischen Untersuchung vier oder mehr (eng schraffiert), bis zu drei (breit schraffiert) oder keine Graaf'schen Follikel aufwiesen.

Auswirkung der Ganglionektomie bei männlichen Jungtieren im Lang und Kurztag

Als Ergebnis dieser Versuche sind die Hodengewichte der verschiedenen Gruppen in Abb. 14 dargestellt. Die Hodengewichte der scheinoperierten Tiere sowie die übrigen gemessenen Organgewichte sind in Tab. 1, die Resultate der Mittelwertvergleiche in Tab. 5 des Anhanges aufgeführt.

Im Kurztag zeigten die Hamster nach Herausnahme der oberen Halsganglien, ebenso wie nach Pinealektomie, eine signifikante Beschleunigung des Hodenwachstums im Vergleich zu Kontrolltieren unter den gleichen Lichtbedingungen. Ein signifikanter Unterschied zwischen ganglionektomierten (Gx) und pinealektomierten (Px) Männchen in ihrer Gonadenentwicklung war im Kurztag nicht nachweisbar. Bei beiden Gruppen im Kurztag war aber das Hodenwachstum signifikant verzögert im Vergleich zu den Langtagskontrollen. Eine Verzögerung der sexuellen Entwicklung war auch bei den operierten Tieren im Langtag festzustellen. Bei den ganglionektomierten Männchen war aber die Verlangsamung des Gonadenwachstums sehr viel deutlicher ausgeprägt als bei den pinealektomierten im Vergleich zu den Langtagskontrollen. Die Pinealektomierten hatten signifikant schwerere Hoden als die Ganglionenektomierten. Während bei pinealektomierten Hamstern eine unterschiedliche Reaktion auf lange und kurze Photoperioden noch nachweisbar war, ließ sich ein Unterschied zwischen ganglionektomierten Kurz- und Langtagstieren nicht mehr statistisch sichern. Gleiche Unterschiede bzw. Ähnlichkeiten zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen, wie sie an den Hodengewichten dargestellt wurden, waren auch bei den Gewichten der akzessorischen Drüsen sowie der ventralen Markierdrüsen zu finden.

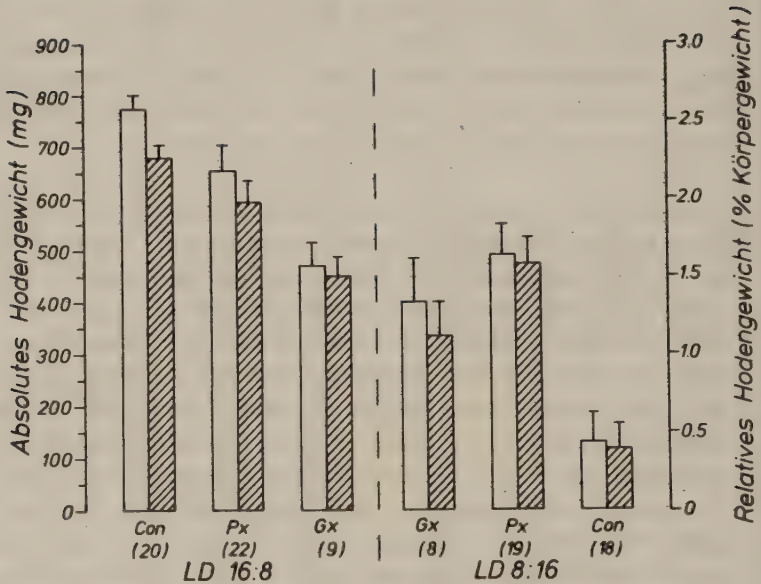


Abb. 14 Hodengewichte von Hamstern im Alter von 45 Tagen im Lang- und Kurztag (MW+SE)

Die Tiere wurden im Alter von 10 Tagen ganglionektomiert (Gx). Zum Vergleich sind die Hodengewichte der pinealektomierten (Px) und unbehandelten Tiere (Con) aus der Abb. 12 dargestellt. Die mittleren Hodengewichte der Scheinoperierten Tiere (SGx) sowie die übrigen Organgewichte sind in Tab. 1 d. Anhanges aufgeführt.

Auswirkung von Melatoninimplantaten bei männlichen Jungtieren im Langtag

Die Ergebnisse dieser Versuche bei intakten Tieren zeigt Abb. 15. Dargestellt sind die Hodengewichte bei den verschiedenen Versuchsgruppen. Die Zahlenwerte auch der übrigen Organgewichte sind in Tab. 1, die Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche in Tab. 6 des Anhanges aufgeführt.

Während Placeboimplantate (Pla) keine Auswirkung auf die Hodenentwicklung zeigten, war bei allen mit Melatonin behandelten Männchen (Mel) im Vergleich zu den Langtagskontrollen das Gonadenwachstum deutlich verlangsamt. Der Grad der Wirksamkeit zeigte dabei eine klare Dosisabhängigkeit. Das Hodenwachstum war bei den mit 1cm und 2cm langen Implantaten versehenen Versuchstieren signifikant verzögert. Die mit 3cm langen Implantaten behandelten Tiere blieben mit ihren Gonaden annähernd auf dem Entwicklungsstand, den gleichaltrige Tiere unter kurzen Photoperioden aufwiesen, ein signifikanter Unterschied war nicht mehr festzustellen. Um die Hypothese zu überprüfen, daß das Pinealorgan der Ort der physiologischen Wirksamkeit des Melatonins ist, wurde die Wirkung des Melatonins auch bei pinealektomierten Männchen untersucht (Abb. 16). Sowohl gegenüber scheinoperierten (Sh), placeboimplantierten (Pla) oder unbehandelten Langtagskontrollen (Con), als auch nur pinealektomierten Tieren (Px) gegenüber war die Hodenentwicklung bei beiden Gruppen von Melatoninimplantierten Hamstern (Mel u. Px+Mel) statistisch signifikant verzögert. Die antigonadotrophe Wirkung des Melatonins war weniger ausgeprägt bei den Tieren, die vorher pinealektomiert worden waren. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

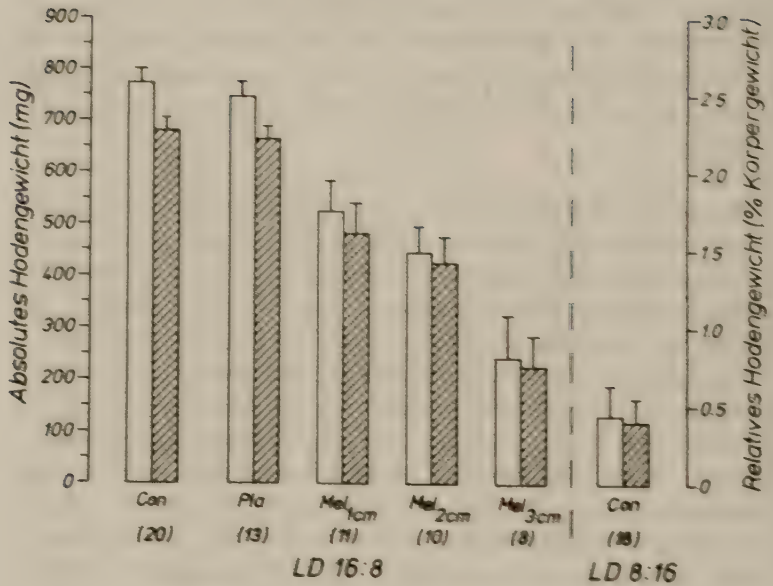


Abb. 15 Hodengewichte von Hamstern im Alter vom 45 Tagen im Lang- und im Kurztag (MW+SE)

Die Tiere erhielten im Alter vom 6 Tagen als Placebos leere (Pla) oder Melatonin-gefüllte (Mel) Implantate verschiedener Länge, 1cm, 2cm oder 3cm. Zum Vergleich sind die Hodengewichte der unbehandelten Tiere aus der Abb. 12 mit aufgeführt.

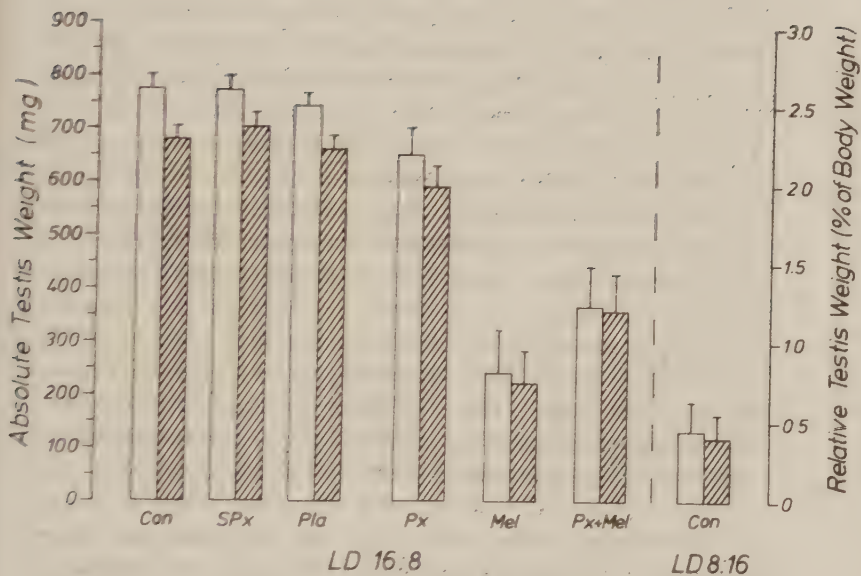


Abb. 16 Hodengewichte von Hamstern im Alter von 45 Tagen im Lang- und Kurztag (MW+SE)
 Pinealektomierte und intakte Tiere erhielten im Alter von 6 Tagen Melatonin-gefüllte Implantate (Mel) von 3cm Länge. Zur Kontrolle sind die Hodengewichte von scheinoperierten (Sh), Placeboimplantierten (Pla) und pinealektomierten (Px) Tieren sowie von unbehandelten Tieren (Con) im Lang- und Kurztag dargestellt.

Diskussion:

Bei der photoperiodischen Kontrolle der Pubertät beim Dsungarischen Hamster ist das Pinealorgan an der Übertragung der inhibitorischen Kurztagwirkung beteiligt. Nach Pinealektomie zeigten die Hamster deutliches Gonadenwachstum trotz der kurzen Photoperioden, die bei den scheinoperierten und unbehandelten Kontrolltieren eine Entwicklung der Geschlechtsorgane unterdrückten. Dieses Ergebnis ist im Einklang mit den Befunden verschiedener Autoren an jungen Laborratten (Übersicht:Reiter u.a., 1975). Bei adulten Tieren ist diese Wirkung des Pinealorgans die häufigst beschriebene im Rahmen der photoperiodischen Steuerung der Jahresperiodik(siehe Einführung). Da die pinealektomierten Hamster im Kurztag im Vergleich zu Langtagskontrollen immer noch eine verzögerte Gonadenreifung aufwiesen, ist entweder anzunehmen, daß neben der Inhibition durch kurze Photoperioden auch eine aktive Stimulation der Gonaden durch die langen Photoperioden erfolgt, oder aber, daß die kurzen Photoperioden ihre antigonadotrophe Wirkung zusätzlich über Wirkwege entfalten, in die das Pineal nicht eingeschaltet ist.

Im Langtag war sowohl bei weiblichen wie auch bei männlichen Tieren nach Pinealektomie die Pubertät leicht signifikant verzögert. Vergleichbar dazu ist der Befund bei Adulten, daß die Rekrudescenz der Gonaden im Langtag beiPinealektomierten verzögert ist (Hoffmann u. Küderling 1975, Küderling, 1976). Insgesamt belegen die Befunde, daß auch die Stimulation der endokrinen Steuerzentren durch lange Photoperioden über das Pinealorgan erfolgt.

Da die pinealektomierten Hamster im Langtag signifikant schwerere Geschlechtsorgane hatten als gleichaltrige

pinealektomierte Tiere im Kurztag, ist zu folgern, daß die Tiere trotz Fehlen des Pineals immer noch zwischen verschiedenen Photoperioden unterscheiden konnten. Es müssen daher extrapineale Wirkwege der Photoperiode bestehen. Unterschiede zwischen pinealektomierten Tieren im Lang- und im Kurztag, die diese Forderung erhärten, sind als Trend auch in Untersuchungen an adulten Hamstern zu finden (Hoffmann u. Küderling, 1975; Küderling 1976). Da dabei die Unterschiede nicht signifikant waren, wurde ihnen von den Autoren keine weitere Beachtung geschenkt. Aus den bisher erwähnten Versuchen kann jedoch nicht gesagt werden, ob über diesen Weg inhibitorische oder stimulierende Wirkungen übertragen werden, und ob die photoperiodischen Informationen zu diesem Wirkweg über dieselben Bahnen geleitet werden wie zum Pinealorgan, also auch das obere Halsganglion passieren.

Bei jungen Dsungarischen Hamstern war nach Herausnahme der oberen Halsganglien die antigonadotrophe Wirkung der kurzen Photoperioden in gleicher Weise aufgehoben wie nach Entfernung des Pineals. Mit diesem Ergebnis im Einklang sind Befunde an anderen Arten, wo Unterbrechung der sympathischen Pinealinnervierung durch Extirpation der oberen Halsganglien oder durch postnatale Applikation eines Sympathicusblockers wie 6-Hydroxydopamine die gleiche Wirkung auf die photoperiodische Reaktion im Kurztag hatte wie die Pinealektomie. Solche vergleichenden Untersuchungen wurden sowohl an präpubertalen wie auch an adulten Tieren durchgeführt (Charlton u.a. 1976; Farrar u. Clarke, 1976). Bemerkenswert dagegen ist, daß bei *Phodopus* sich im Langtag die Ganglionektomierten signifikant von den Pinealektomierten in ihrer Gonadenentwicklung unterscheiden. Nach Herausnahme der Ganglien war die Gonaden-

stimulation durch die langen Photoperioden erheblich stärker unterdrückt als nach Pinealektomie. Ein Unterschied sowohl zu den ganglionektomierten als auch zu den pinealektomierten Kurztagstieren war nicht mehr sicherbar. Bei adulten Tieren gibt es im Langtag nur eine vergleichbare Untersuchung am Frettchen (Herbert 1967). In dieser Arbeit wird berichtet, daß die Auswirkung der Ganglionektomie ähnlich der der Pinealektomie war. Da jedoch weder Diagramme noch Originaldaten gegeben wurden, ist nicht nachprüfbar, ob möglicherweise Unterschiede als Trends vorlagen, wie sie hier bei präadulten Zwerghamstern statistisch gesichert werden konnten. Da die jungen Dsugarischen Hamster nach Entfernung der oberen Halsganglien nicht mehr zwischen den verschiedenen Photoperioden unterscheiden konnten, muß man schließen, daß der extrapineale Wirkweg, der aus dem Unterschied zwischen Pinealektomierten im Lang- und Kurztag gefolgert wurde, ebenso wie das Pinealorgan seine photoperiodische Information über das Ganglion cervicale superior erhält. Weiterhin kann geschlossen werden, daß über diesen Wirkweg die Übertragung der stimulierend wirkenden langen Photoperioden erfolgt. Während bei den Pinealektomierten im Langtag ein beschleunigtes Gonadenwachstum festzustellen war im Vergleich zu gleich behandelten Tieren im Kurztag, ist dieses bei Ganglionektomierten nicht mehr der Fall. Angaben über die anatomische Lokalisierung dieses Wirkweges wären reine Spekulation. In Frage kommen alle sympathisch innervierten Areale des Kopfes, angefangen von den Augenlidern und der Iris bis hin zu den Blutgefäßen und den Hirnhäuten. Ausschließen kann man vermutlich die auch als tiefes Pineal bezeichnete Lamina intercalaris, die Regio habenularis und die Stria medullaris, da die noradrenergen Fasern in diese Hirngebiete von den Nervi coronarii über

den Pinealkörper und den Pinealstiel einwachsen (Wiklund, 1974). Diese Areale wären auch nach Pinealektomie denergiert. Zusätzlich zeigen die Befunde bei den Ganglionektomierten, daß einer nervösen Hirn-Pinealverbindung, für die sich in letzter Zeit die Hinweise häufen (David u. Herbert 1973, Nielsen u. Möller 1975), keine besondere Bedeutung hinsichtlich der photoperiodischen Reaktion zukommt.

Angemerkt sei, daß es abgesehen von photoperiodischen Wirkungen Hinweise auf extrapineale Lichtwirkungen auf die die Gonaden regulierenden Zentren gibt. Der durch Dauerlicht induzierte Daueröstrus bei Ratten bleibt auch nach Pinealektomie bestehen (Brown-Grant u. Östberg, 1974; Hoffmann, J. u. Cullin 1975).

Die Melatonin-implantierungsversuche zeigen, daß das Melatonin an der Unterdrückung des Gonadenwachstums in kurzen Photoperioden beteiligt sein kann. Alle Hamster, denen Melatonin implantiert wurde, wiesen eine signifikante Verzögerung des Hodenwachstums auf trotz stimulierender langer Photoperioden. Mit der höchsten Dosis konnte eine Kurztagswirkung nachgeahmt werden. Ähnliche jedoch weniger deutliche Ergebnisse wurden auch bei präadulten Gerbils erzielt (Vaughan, 1976). Bei jungen Ratten und Mäusen wurde durch Melatonin die kompensatorische Hypertrophie der Ovarien nach einseitiger Kastration gehemmt (Vaughan, 1974). Auch bei adulten Säugern ist wiederholt die Funktion des Melatonins als Überträgersubstanz der kurzen Photoperioden gezeigt worden. (Übersicht: Reiter, 1975; Thorpe u. Herbert, 1976).

Die deutliche Dosisabhängigkeit der antigonadotropen Wirkung des Melatonins, die sich auch aus Versuchen mit adulten Goldhamstern im Langtag herleiten läßt (Turek u.a. 1975), läßt die Vermutung zu, daß zur Entfaltung der Wirksamkeit das Melatonin eine bestimmte Konzentrationsschwelle überschreiten muß. Durch die Eigenschaften der Silastic

Schläuche wird die abgegebene Menge des Melatonins über längere Zeit konstant gehalten. Da die Tiere aber zwischen dem Alter von sechs Tagen bis zum Alter von 45 Tagen eine starke Gewichtsentwicklung durchliefen, nahm die Konzentration des Melatonins ab. So erfolgte die Unterschreitung der kritischen Konzentration unterschiedlich spät in Abhängigkeit von der implantierten Schlauchlänge, was sich in der Abstufung der Gonadengewichte im Alter von 45 Tagen äußerte.

Das Melatonin behielt seine antigonadotrophe Wirksamkeit auch, wenn die Jungtiere vorher pinealektomiert wurden. Dies, zusammengekommen mit den Befunden an pinealektomierten adulten Hamstern (Turek, 1977; Hoffmann u. Küderling 1977), widerspricht der Hypothese, daß das Zielorgan des Melatonins das Pinealorgan selbst sei, wo es die Ausschüttung der eigentlich antigonadotroph wirkenden Substanzen steuern soll. Es erscheint zunächst überraschend, daß die antigonadotrophe Wirkung des Melatonins bei pinealektomierten Hamstern weniger deutlich ausgeprägt war als bei intakten Tieren, da, wie vorher gezeigt, schon allein nach Pinealektomie die Gonadenentwicklung im Langtag verlangsamt war. Diese Diskrepanz ließe sich erklären durch die hypothetische Annahme, daß oberhalb einer gewissen Melatoninkonzentration die progonadotrophen Pinealwirkungen gehemmt sind. In diesem Falle würde sich bei intakten Tieren die Wirkung des implantierten Melatonins mit der des endogen vom Pineal gebildeten Melatonins addieren, und dadurch könnte die kritische Konzentration über längere Zeit gehalten werden als bei pinealektomierten Tieren.

Die in Abb. 15 dargestellten Befunde könnten zu der Annahme verleiten, daß Melatonin in der Regulation der Pubertät antigonadotroph per se wirkt. Beim Goldhamster ist im Gegensatz zum Dsungarischen Hamster das Einsetzen der

Geschlechtsreife photoperiodisch unabhängig (Gaston u. Menaker 1968). Bei dieser Spezies waren Melatoninimplantate präpubertal wirkungslos. Nach der Geschlechtsreife, wenn die Goldhamster photoperiodisch reagieren können, hatten, wie bereits erwähnt, Melatoninimplantate antigonadotrophe Wirkung. Daher gilt auch im Rahmen der Pubertätssteuerung die in der Einführung geäußerte Annahme, daß Melatonin nicht ein antigonadotropes Hormon ist, sondern als photoperiodischer Transducer anzusehen ist.

Zusammenfassend zeigen die Befunde, daß das Pinealorgan in den physiologischen Mechanismus der photoperiodischen Steuerung der Pubertät beim Dsungarischen Hamster eingeschaltet ist. Es ist sowohl an der Übertragung der inhibitorisch wirkenden kurzen Photoperioden beteiligt, als auch an der Übertragung der stimulierend wirkenden langen Photoperiode. Daneben gibt es einen photoperiodischen Wirkweg, in den das Pineal nicht eingeschaltet ist. Er erhält ebenso wie das Pineal seine photoperiodische Information über das Ganglion cervicale superior. Über diesen Wirkweg werden die stimulierenden Wirkungen der langen Photoperiode übertragen. Als photoperiodischer Transducer zwischen Pinealorgan und den endokrinen Steuerzentren fungiert das Indol Melatonin. Es zeigt eine deutliche Dosisabhängigkeit in seiner Wirkung. Als Zielorgan des Melatonins kann das Pinealorgan selbst ausgeschlossen werden. Unterschiede im physiologischen Mechanismus der photoperiodischen Kontrolle der Jahresperiodik und der photoperiodischen Regulation der Pubertät können nicht gezeigt werden.

Abschnitt III

Die postnatale Entwicklung des Pinealorgans

Einführung:

Das Pinealorgan ist, wie die im vorhergehenden Abschnitt geschilderten Versuche belegen, an der photoperiodischen Steuerung der Pubertät beim Dsungarischen Hamster beteiligt (Brackmann u. Hoffmann 1977). Als humoraler Faktor, über den das Pineal die hypothalamo-hypophysäre Achse beeinflusst, fungiert das Melatonin (Brackmann 1977), welches in den Pinealocyten gebildet wird. Als Substrat für die Synthese des Melatonins dient das Serotonin(5-HT), das in großen Mengen in den Parenchymzellen des Pineals nachgewiesen wurde. (Bertler u.a. 1964, Zweig u. Snyder 1968). Die Synthese erfolgt in zwei Schritten über die Enzyme NAT und HIOMT. Die Aktivität der NAT wird, wie bereits in Abschnitt II eingehend geschildert, reguliert über die sympathische Innervierung des Pineals. Die noradrenergen Fasern entspringen in den oberen Halsganglien, erreichen das Pineal über die Nervi coronarii und enden direkt an den Pinealocyten. Zusammenfassend heißt dieses, daß für die Bildung von Melatonin und damit für die photoperiodische Reaktionsfähigkeit der Tiere das Pineal sympathisch innerviert sein und in ausreichender Menge Serotonin enthalten muß.

Bei Laborratten, bei denen ebenfalls das Einsetzen der Geschlechtsreife abhängig ist von der Photoperiode (Fiske 1941), wurde gezeigt, daß bei der Geburt das Pinealorgan weder Serotonin enthält noch noradrenerg innerviert ist (Owman 1964, Machado u.a. 1967). Die Pinealocyten haben noch nicht ihre endgültige Größe erreicht und die Enzym-

ausstattung ist noch nicht vollständig (Klein u. Lines 1969, Quay 1959, Zweig u. Snyder 1968). Die noradrenergen Fasern beginnen jedoch recht bald nach der Geburt in das Pineal einzuwachsen. Im Alter von zwei Tagen ist das Pinealorgan sympathisch innerviert, jedoch ist es immer noch frei von Serotonin (Wiklund 1974). Das erste Auftreten von Serotonin wurde zwischen dem dritten und sechsten Lebenstag gefunden (Owman 1964, Machado u.a. 1967). Etwa mit zehn bis elf Tagen ist das Pineal soweit entwickelt, daß es nicht mehr fluoreszenzmikroskopisch von einem adulten unterscheidbar ist. Während die Funktion des Pineals abhängig ist von der Photoperiode, scheint die Entwicklung davon unabhängig zu sein (Trakulungsri u. Yeager 1977). Im Rahmen dieser Arbeit war es nun von Interesse festzustellen, inwieweit die postnatale Entwicklung des Pinealorgans bei *Phodopus sungorus* korreliert mit der Ontogenese der photoperiodischen Reaktion. Es wurde dabei die Möglichkeit geprüft, ob die Unabhängigkeit der Gonadenentwicklung von der Photoperiode in den ersten zehn Lebenstagen darauf zurückzuführen ist, daß das Übertragungssystem noch nicht voll entwickelt ist. Als Kriterien sollten dienen die Entwicklung der noradrenergen Innervierung des Pineals sowie das erste Auftreten von Serotonin in den Pinealocyten.

Die Versuche hierzu wurden durchgeführt in Zusammenarbeit mit Herrn Theo van Veen und Frau Eva Moghimzadeh am Zoologischen Institut und am Institut für Histologie der Universität Lund in Schweden.

Material:

Untersucht wurden 31 Jungtiere aus insgesamt 12 Würfen, deren Mütter tragend in den Kurztag verbracht und bis zum Werfen täglich morgens um 8^h kontrolliert wurden. Die Jungtiere wurden am 1., 5., 10. und 15. Lebenstag getötet, wobei der Tag des Findens als Tag 1 angesehen wurde. Es wurde darauf geachtet, daß in jeder Versuchsgruppe Tiere beiderlei Geschlechts verwendet wurden, die aus wenigstens 2 Würfen stammten. Zum Vergleich und zur Kontrolle wurde die Fluoreszenz der Pinealorgane von adulten Männchen untersucht. Um die circadianen Schwankungen im Serotoningehalt der Zellen zu kompensieren wurden alle Tiere zur gleichen Tageszeit (11^h $\pm$ 1Std) getötet.

Methodik:

Die Darstellung von Serotonin und Noradrenalin in den Pinealorganen erfolgte mit einer von Falck und Hillarp entwickelten Methode (Falck u.a. 1962). Das Prinzip der Methode besteht darin, die Katecholamine an ihren Bildungs- oder Speicherstätten zu fixieren, und sie durch Paraformaldehydbedampfung biochemisch so umzuformen, daß sie unter UV-Licht eine spezifische Fluoreszenz zeigen.

Zur Anreicherung der Katecholamine wurde den Tieren zwei Stunden vor der Fixierung L-Tryptophan und Monoaminoxidase-Inhibitor intraperitoneal injiziert. Zur Fixierung wurden die Tiere mit Äther betäubt und über die Aorta mit einer Pufferlösung perfundiert, die Glyoxylsäure, Paraformaldehyd und Mg enthielt (Loren u.a. 1976). Anschließend wurden die Gehirne mit anhängendem Pinealorgan freipräpariert, in flüssigem Stickstoff eingefroren und dann gefriergetrocknet. Die getrockneten Präparate wurden bei

80°Cel. für eine Stunde mit Paraformaldehyddampf bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50% behandelt und anschließend im Vacuum in Paraplast eingebettet. Für die Auswertung wurden 6-8µdicke Serienschnitte unter einem Leitz-Fluoreszenzmikroskop mit einem BG 12 Primärfilter und einem K 530 Sekundärfilter durchgemustert.

Die Spezifität der paraformaldehyd-induzierten Fluoreszenz wurde geprüft durch mikrospektrophotometrische Aufzeichnung der Emissions- und Exitationsspektren. Die Berechnung erfolgte entsprechend den Angaben von Björklund (Björklund u.a. 1972). Weitere Angaben zur Methodik wurden beschrieben von van Veen (van Veen, Brackmann, Mogimzadeh im Druck).

Ergebnisse:

Wie die Sagittalschnitte von Pinealorganen am Tag 1 zeigen (Abb. 17), waren die Meningen und die Kapsel des Pineals durch grün fluoreszierende noradrenerge Fasern innerviert, die von den Nervi coronarii stammen (links oben in Abb. 17). Nur vereinzelt waren solche sympathischen Nervenfasern auch im Parenchym des Pinealorgans nachweisbar. Es sei hier darauf hingewiesen, daß die Tiere in den einzelnen Versuchsgruppen Altersunterschiede von mehreren Stunden aufweisen können, da alle Tiere zur gleichen Tageszeit unabhängig von ihrer Geburtsuhrzeit getötet wurden. Dieser mögliche Altersunterschied sowie geringe Unterschiede im Entwicklungsstadium zur Zeit der Geburt können die Ursache für die Entwicklungsunterschiede bei den Pinealorganen von eintägigen Hamstern sein. In keinem Fall konnte gelb fluoreszierendes Serotonin (5-HT) oder dessen Vorstufe das gleich fluoreszierende 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) in den Pinealorganen nachgewiesen werden.

Die Pinealorgane am Tag 5 nach der Geburt waren durchzogen von einem dichten Netzwerk grün fluoreszierender Fasern (Abb. 18). Diese Innervierung setzte sich fort im Stiel und war in einigen Fällen auch im tiefen Pineal der Lamina intercalaris nachweisbar. Auch im Alter von 5 Tagen war noch keine gelbe Fluoreszenz sichtbar.

Im Alter von 10 Tagen war das grüne Fasernetzwerk überstrahlt von einer leichten gelben Fluoreszenz (Abb. 19), die unter dem Einfluß der UV-Strahlung sehr schnell verblaßte. Dann wurde die noradrenerge Innervierung mit ihren feinen Verästelungen deutlicher sichtbar, die über den Stiel bis zur Lamina intercalaris zu verfolgen war. Die Pinealorgane von 15 Tage alten Tieren zeigen das gleiche

Bild wie die von adulten Hamstern. Eine hell strahlende gelbe Fluoreszenz überdeckte vollständig die grün fluoreszierenden Nerven mit ihren Verzweigungen Abb. 20. Auch noch nach 5-10 minütiger UV Exposition (Abb. 21) war noch eine große Menge dieses fluoreszierenden Materials nicht verblaßt, jedoch waren dann die Nervenverästelungen deutlicher lokalisierbar.

Das Verblassen nach UV Exposition sowie die Mikrospektralanalyse wiesen die gelbe Fluoreszenz als 5-HT bzw. 5-HTP spezifisch aus. Entsprechend war die grüne Fluoreszenz als Noradrenalin spezifisch anzusprechen. (van Veen u.a. im Druck)



Abb. 17 Pinealorgan eines Dsungarischen Hamsters am
1. Lebenstag

Die Darstellung der Katecholamine erfolgte nach der
Methode von Falck u. Hillarp

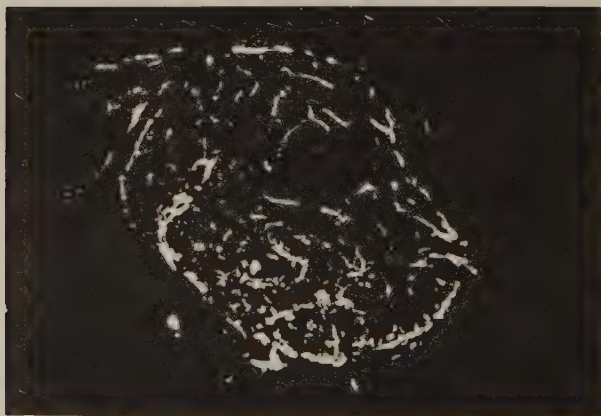


Abb. 18 Pinealorgan eines Dsungarischen Hamsters am 5.
Lebenstag



Abb. 19 Pinealorgan mit Stiel eines Dsungarischen Hamsters
am 10. Lebenstag



Abb. 20 Pinealorgan eines Dsungarischen Hamsters am 15. Lebenstag



A

B

Abb. 21 Pinealorgan eines Dsungarischen Hamsters am 15. Lebenstag

Unter B ist die Fluoreszenz vor und unter A nach 10minütiger UV-Licht Exposition gezeigt.

Diskussion:

Das Pinealorgan der Säuger benötigt zur Synthese des Melatonins und damit zur photoperiodischen Reaktionsfähigkeit Serotonin als Substrat. Zudem muß es über noradrenerge Fasern sympathisch innerviert sein, da die Aktivität der NAT, eines der an der Melatoninbildung beteiligten Enzyme, über diese Innervierung gesteuert wird. Unter Zugrundelegung dieser beiden Kriterien hat das Pinealorgan neugeborener Dsungarischer Hamster noch nicht die Fähigkeit, den photoperiodischen Einfluß auf die Gonadenregulation zu vermitteln. Am ersten Tag nach der Geburt ist es weder sympathisch innerviert noch enthält es Serotonin. Da bei einigen Hamstern am Tag 1 noradrenerge Fasern, wenn auch nur einige wenige, im Pinealkörper gefunden wurden, ist anzunehmen daß die Entwicklung dieser Innervierung kurz nach der Geburt beginnt. Am Tag 5 nach der Geburt ist das Pineal durchzogen von einem dichten Netzwerk noradrenerger Fasern, jedoch kann es immer noch nicht in die Übertragung photoperiodischer Informationen eingeschaltet sein, da auch weiterhin noch kein Serotonin in den Pinealocyten nachweisbar ist. Das erste Serotin sollte zwischen dem 6. und 10. Tag im Parenchym des Pineals darstellbar sein, da mit 10 Tagen die Zellen die für Serotonin spezifische gelbe Fluoreszenz aufwiesen, wenn auch in erheblich geringerer Konzentration als im Alter von 15 Tagen. Im Alter von 10 Tagen verblaßt die Fluoreszenz bereits nach sehr kurzer UV Exposition, während sie bei 15-tägigen wie bei adulten Hamstern auch nach 5-10 Minuten langer UV Bestrahlung deutlich vorhanden war. Das Pineal von Hamstern im Alter von 10 Tagen sollte nach den genannten Kriterien in der Lage sein, Melatonin zu synthetisieren, und dadurch die Fähigkeit besitzen im Rahmen der Übertragung kurzer Photoperioden einen anti-

gonadotropen Einfluß auf die Gonaden auszuüben. Vorausgesetzt wird hierbei, daß die zur Melatoninsynthese benötigten Enzymsysteme im Pineal vorhanden sind. Bei der Laborratte, die eine ähnliche fluoreszenzmikroskopisch nachweisbare Entwicklung des Pineals zeigt wie der Dsungarische Hamster (Machado u.a. 1967, Wiklund 1974), konnte die HIOMT, das zweite an der Melatoninbildung beteiligte Enzym, schon in der zweiten Lebenswoche nachgewiesen werden (Klein u. Lines 1969).

Die hier beschriebenen histologischen Befunde belegen eine Parallelität zwischen der Entwicklung des Pinealorgans und dem Einsetzen der photoperiodischen Reaktionsfähigkeit, welche aus den Untersuchungen zur Ontogenese der photoperiodischen Reaktion abgeleitet wurde.

Wie die Hodengewichtskurven im Lang- und im Kurztag zeigten (s. Abb. 2), ist das Gonadenwachstum in den ersten zehn Lebenstagen in beiden Photoperioden identisch, erst nach dem zehnten Lebenstag beginnen die Kurven sich zu trennen. Die Unempfindlichkeit der Hodenentwicklung gegenüber photoperiodischen Einflüssen in den ersten Lebenstagen bestätigen die Ergebnisse der Versuche mit Änderungen der photoperiodischen Bedingungen zu verschiedenen Altersstufen (s. Abb. 11)

Beim Goldhamster ist eine photoperiodische Reaktion erst im Alter von 6 Wochen nachweisbar. Diese postnatale Unempfindlichkeit kann bei dieser Art nicht auf eine noch nicht vollständige Entwicklung des Pinealorgans zurückgeführt werden; es hat im Alter von 15 Tagen den gleichen Entwicklungsstand erreicht, wie das vom Dsungarischen Hamster (van Veen u.a. im Druck). Bei dieser Spezies

dürfte die photoperiodische Unempfindlichkeit eher auf eine Unterentwicklung der Melatoninrezeptoren zurückzuführen sein, da auch Melatoninsubstitution keinen Einfluß auf die präpubertale Gonadenentwicklung hat (Turek u. Losee im Druck).

Schlußbetrachtung:

Junge Dsungarische Hamster beginnen etwa mit 10 Tagen, in ihrer Gonadenentwicklung auf die umgebende Photoperiode zu reagieren. Bis zu diesem Alter sind sie unempfindlich gegenüber photoperiodischen Einflüssen, wie die im Abschnitt I gezeigten Versuche belegen. Diese anfängliche Unempfindlichkeit ist darauf zurückzuführen, daß das Pinealorgan, dem bei der Übertragung der photoperiodischen Wirkung eine besondere Bedeutung zukommt (Abschnitt II), bei der Geburt noch nicht funktionsfähig ist und sich erst bis zum Alter von etwa 10 Tagen ausdifferenziert, wie die in Abschnitt III geschilderten Versuche zeigen. In diesem Alter beginnen die Jungtiere auch zum ersten Mal die Nestbox für kurze Exkursionen zu verlassen. Ebenfalls zeitlich parallel mit dem Einsetzen der photoperiodischen Reaktionsfähigkeit und der funktionellen Ausbildung des Pinealorgans öffnen sich bei den Hamstern die Augenlider, was jedoch nicht bedeutet, daß Lichtinformationen nicht auch durch die geschlossenen Lider zur Retina gelangen können.

Sind die Jungtiere erst einmal in der Lage, die photoperiodische Information zu verarbeiten, zeigen sie die gleiche photoperiodische Reaktion wie die Alttiere. Bei beiden ist die Unterdrückung der Geschlechtsfunktion durch kurze Photoperioden zeitlich begrenzt. Nach etwa 150 Kurztagen werden die Jungtiere spontan geschlechtsreif (Hoffmann im Druck), und auch die Adulten zeigen nach etwa derselben Zeit eine spontane Rekrudescenz der Gonaden (Küderling, 1976). Auch der physiologische Übertragungsmechanismus der Photoperiode ist bei Jung- und Alttieren gleich. Das Pinealorgan ist an der Übertragung sowohl der Kurztags- wie auch der Langtagwirkungen beteiligt. Das Indol Melatonin fungiert als photoperiodischer Transducer. Man darf annehmen, daß

der bisher nur hier bei Jungtieren gezeigte extrapineale Wirkweg der Photoperiode auch bei Alttieren in entsprechend angelegten Versuchen nachgewiesen werden kann. Aus diesen Gründen ist die photoperiodische Steuerung der Jugendentwicklung nicht als ein isoliertes Phänomen anzusehen, sondern als ein Teil der Jahresperiodik. Sie bewirkt, daß die Jungtiere sich so entwickeln, daß sie in ihren Körperfunktionen jahreszeitlich phasengleich werden mit den Alttieren.

Zusammenfassung:

Beim Dsungarischen Zwerghamster (*Phodopus sungorus sungorus* PALLAS) ist das Einsetzen der Geschlechtsreife abhängig von der Photoperiode. Lange Photoperioden wirken stimulierend auf das Gonadenwachstum, während kurze Photoperioden es hemmen. Ziel der geschilderten Untersuchungen war eine genauere Analyse dieser photoperiodischen Steuerung der Jugendentwicklung. Versuche zur Ontogenese der photoperiodischen Reaktion zeigten, daß die Jungen nach der Geburt zunächst unempfindlich sind gegenüber photoperiodischen Reizen, was darauf zurückzuführen ist, daß das Pinealorgan bei der Geburt noch nicht funktionsfähig ist, sondern sich erst bis zum Alter von etwa 10 Tagen ausdifferenziert, wie histologische Untersuchungen belegten. Die präpubertale photoperiodische Reaktion ist nicht ein der Prägung vergleichbarer Vorgang. Die Tiere messen kontinuierlich die Photoperiode, und eine einmal eingeschlagene Entwicklungsrichtung ist wieder unkehrbar. Die Unterscheidungsgrenze zwischen langer und kurzer Photoperiode wurde beim Dsungarischen Hamster mit etwa 12,5 Std. angenommen. Es wurde gezeigt, daß oberhalb dieser Schwelle jedoch auch die Änderungsrichtung der Photoperiode entscheidend ist für die Entwicklung der Jungtiere. Ein Einfluß der elterlichen photoperiodischen Reaktion auf die Entwicklung ihrer Jungen konnte nicht ausgeschlossen werden, jedoch war dieser bei den geschilderten Versuchen vernachlässigbar.

Daß dem Pinealorgan eine entscheidende Bedeutung im physiologischen Übertragungsmechanismus der photoperiodischen Wirkungen zukommt, zeigen verschiedene Versuche. Sowohl die Stimulation der Gonaden durch lange Photoperioden als auch die Inhibition durch kurze Photoperioden erfolgt über

das Pinealorgan. Daneben konnte ein extrapinealer Wirkweg der Photoperiode nachgewiesen werden, der ebenso wie das Pinealorgan die photoperiodische Information über das obere Halsganglion erhält. Über diesem Wirkweg werden vornehmlich die Wirkungen langer Photoperioden übertragen. Es konnte gezeigt werden, daß dem Melatonin als Hormon bei der Übertragung von photoperiodischen Wirkungen vom Pineal zu den endokrinen Steuerzentren eine besondere Bedeutung zukommt, wobei als ausschließliche Wirkstätte des Melatonins das Pineal ausgeschlossen werden konnte.

- Aschoff, J. (1955) Jahresperiodik der Fortpflanzung beim Warmblüter. *Studium Generale*, 8. Jahrg. Heft 12.
- Benson, B., Matthews, M.J., Hruby, V.J. (1976) Characterization and effects of a bovine pineal antigonadotropic peptide. *Amer. Zool.* 16, 17-24.
- Bertler, A., Falck, B., Owman, C. (1964) Studies on the 5-Hydroxytryptamine stores in the pineal gland of rat. *Acta physiologica scand.* Vol. 63. Suppl. 239.
- Björklund, A., Falck, B., Lindvall, O. (1972) Microspectrofluorometric analysis of cellular monoamines after formaldehyde or glyoxylic acid condensation. *Methods in Brain Research* J. Wiley and Sons London 249-294.
- Brackmann, M., Hoffmann, K. (1977) Pinealectomy and Photoperiod influence testicular development in the Djungarian Hamster. *Naturwiss.* 64, 341.
- Brackmann, M. (1977) Melatonin delays puberty in the djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Naturwiss.* 64, 642-643.
- Bridges, R., Tamarkin, L., Goldman, B. (1976) Effects of photoperiod and melatonin reproduction in the Syrian hamster. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 16 {3} 399-408
- Brown-Grant, K., Östberg, A.J.C. (1974) Lack of effect of pineal denervation on the responses of the female albino rat to exposure to constant light. *J. Endocr.* 62, 45-50.
- Bünning, E. (1936) Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 54, 590-607.
- Cardinali, D.P., Rosner, J.M. (1971) Effects of melatonin, serotonin and N-acetylserotonin on the production of steroids by ducks testicular homogenates. *Steroids*, 18, 25-37.
- Charlton, H.M., Grocock, C.A., Ostberg, A. (1976) The effects of pinealectomy and superior cervical ganglionectomy on the testis of the vole, *Microtus agrestis*. *J. Reprod. Fert.* 48, 377-379.

- David, G.F.X., Herbert, J. (1973) Experimental evidence for a synaptic connection between Habenula and pinealganglion in the ferret. *Brain Research* 64, 327-343.
- Elliott, J. (1974) Photoperiodic regulation of testis function in the golden hamster: relation to the circadian system. Thesis: Dept. Zool. Univ. Texas, Austin, USA
- Falck, B., Hillarp, N., Thieme, G., Torp, A. (1962) Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.* 10, 348-354.
- Farrar, G.M., Clarke, J.R. (1976) Effect of chemical sympathectomy and pinealectomy upon gonads of voles (*Microtus agrestis*) exposed to short photoperiod. *Neuroendocrinology* 22, 134-143.
- Figala, J., Hoffmann, K., Goldau, G. (1973) Zur Jahresperiodik beim Djungarischen Zwerghamster *Phodopus sungorus* Pallas. *Oecologia* (Berl) 12, 89-118
- Fiske, V.M. (1941) Effect of light on sexual maturation, estrus cycle and anterior pituitary of the rat. *Endocrinology* 29, 189-196.
- Flint, W.E. (1966) Die Zwerghamster der paläarktischen Fauna. *Wittenberg Lutherstadt: A. Ziemsen.*
- Gaston, S., Menaker, M. (1967) Photoperiodic control of hamster testis. *Science* 167, 925-928.
- Grocock, C.A., Clarke, J.R. (1974) Photoperiodic control of testis activity in the vole, *Microtus agrestis*. *J. Reprod. Fert.* 39, 337-347.
- Heldmaier, G., Hoffmann, K. (1974) Melatonin stimulates growth of brown adipose tissue. *Nature* Vol. 247, No. 5438, 224-225.
- Herbert, J. (1967) The effect of removal or sympathetic denervation of the pineal upon light-induced oestrus in the ferret. *Acta Endocr. Suppl.* 119, 46.
- Herbert, J. (1969) The pineal gland and light-induced oestrus in ferrets. *J. Endocrinol.* 43, 625-636.

- Herbert, J. (1971) The role of the pineal gland in the control by light of the reproductive cycle of the ferret. In *The Pineal Gland*: eds. Wolstenholme, G.E.W., Knight, J., Churchill Livingstone, London 303-327.
- Hoffmann, J.C., Cullin, A.M. (1975) Effects of pinealectomy and constant light on estrous cycles of female rats. *Neuroendocrinology* 17, 167-174.
- Hoffmann, K. (1973) The influence of photoperiod and melatonin on testis size, body weight, and pelage colour in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *J. Comp. Physiol.* 85, 267-282.
- Hoffmann, K. (1974) Testicular involution in short photoperiods inhibited by melatonin. *Naturwiss.* 8, 364-365.
- Hoffmann, K. Short photoperiods delay puberty and growth, and induce molt into winter pelage in the Djungarian hamster. *J. Reprod. Fert* (in press)
- Hoffmann, K. Die Funktion des Pineals bei der Jahresperiodik der Säuger. *Nova Acta Leopoldina* (im Druck).
- Hoffmann, K. Photoperiodic mechanism in hamsters: the participation of the pineal gland, in *Environmental Endocrinology*. Eds. Assenmacher, J., Farner, D. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- Hoffmann, K., Küderling, I. (1975) Pinealectomy inhibits stimulation of testicular development by long photoperiods in a hamster (*Phodopus sungorus*). *Experientia* 31, 122.
- Hoffmann, K., Küderling, I. (1977) Antigonadal effects of melatonin in pinealectomized Djungarian hamsters. *Naturwissenschaften* 339.
- Hoffman, R.A., Reiter, R.J. (1965) Pineal gland: Influences on gonadotropin of male hamsters. *Science* 148, 1609-1611.
- Kappers, A. (1969) The mammalian pineal organ. *J. Neuro-Visceral Relations*, Suppl. IX 140-184.
- Klein, D.C., Lines, S.V. (1969) Pineal hydroxyindole-O-methyl transferase activity in the growing rat. *Endocrinology* 84, 1523-1525.

- Klein, D.C., Weller, J.L. (1970) Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* 169, 1093-1095.
- Klein, D.C., Weller, J.L. (1972) Rapid light induced decrease in pineal serotonin-N-acetyltransferase activity. *Science* 177, 532-533.
- Klein, D.C., Weller, J.L., Moore, R.Y. (1971) Melatonin metabolism: neural regulation of pineal serotonin acetyl coenzyme a N-acetyltransferase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 68, 3107-3110.
- Küderling, I. (1976) Untersuchungen zum Einfluß der Epiphysis cerebri auf die Steuerung der Jahresperiodik beim Dsungarischen Zwerghamster (*Phodopus sungorus* Pallas) in Abhängigkeit von der Photoperiode. Diplomarbeit aus dem Fachbereich Biologie der Ludwig Maximilian Universität München.
- Loren, I., Björklund, A., Falck, B., Lindvall, O. (1976) An improved histo-fluorescence procedure for freeze-dried paraffin-embedded tissue based on combined formaldehyde-glyoxylic acid perfusion with high magnesium content and acid pH. *Histochem.* 49, 177-192.
- Machado, C.R., Wragg, L.E., Machado, A.B.M., (1967) A histochemical study of sympathetic innervation and 5-HT in the developing pineal body of the rat. *Brain. Res.* 8, 310-318.
- Moore, R.Y., Klein, D.C. (1974) Visual pathway and central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Research* 71, 17-33.
- Morin, J., Constant (1967) Contribution à l'étude de l'ontogenèse du rythme nycthéméral d'activité chez le Hamster doré (*Mesocricetus auratus*). *C.R.Acad. Sci. Paris* 265, 1071-1074.
- Nielson, J.T., Möller, M. (1975) Nervous connection between the brain and the pineal gland in the cat (*Felis catus*) and the monkey (*Cercopithecus aethiops*) *Cell tiss. Res.* 161, 293-301.

- Owman, C. (1964) Localization of neuronal and parenchymal monoamines under normal and experimental conditions in the mammalian Pineal gland. In Progress in Brain Res. Vol. 10. Structure and Function of the Epiphysis cerebri.
- Palmer, D.L., Riedesel, M.L. (1975) Response of whole-animal and isolated hearts of ground squirrels (*Citellus lateralis*) to melatonin. Comp. Biochem. Physiol. 53c, 69-72
- Pittendrigh, C.S. (1972) Circadian surfaces and the diversity of possible roles of circadian organization in photoperiodic induction. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 2734.
- Pittendrigh, C.S., Minis, D.H. (1964) The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. Am. Nat. 43, 261-294.
- Quay, W.B. (1959) Experimental modifications and changes with age in pineal succinic dehydrogenase activity. Am. J. Physiol. 196, 951-955.
- Quay, W.B. (1974) Pineal chemistry in cellular and physiological mechanisms. Springfield, C.C. Thomas.
- Ralph, C. L., Mull, D., Lynch, H.D., Hellund, L.A. (1971) A melatonin rhythm persists in rat pineals in darkness. Endocrinol. 89, 1361-1366.
- Reitman, R. (1976) The Pineal: Annual Research Reviews, Eden Press Montreal Canada.
- Reiter, R.J. (1973) Comparative Physiology: Pineal Gland. Ann. Rev. Physiol. 35, 305-328.
- Reiter, R.J., Sorrentino, S., Hoffman, R.A. (1970) Early photoperiod conditions and pineal antigonadal function in male hamsters. J. Fertl. 15, 163-170.
- Reiter, R.J., Vaughan, M.K., Vaughan, G.M., Sorrentino, S. jr., Donofrio, R.J. (1975) The pineal gland as an organ of internal secretion. In Frontiers of Pineal Physiology., p. 54-174 & Altschule, M.D. ed./ MIT Press Cambridge.

- Reiter, R.J., Blask, D.E., Johnson, L.Y., Rudeen, P.K., Vaughan, M.K., Waring, P.J. (1976) Melatonin inhibition of reproduction in male hamsters: Its dependency on time of day of administration and on an intact and sympathetically innervated pineal gland. *Neuroendocrinology* 22, 107-116.
- Rusak, B., Morin, L.P. (1976) Testicular responses to photoperiod are blocked by lesions of the suprachiasmatic nuclei in golden hamsters. *Biol. Reprod.* 15, 366-374.
- Rust, C.C., Meyer, R.K. (1969) Hair color, molt and testis size in male short-tailed weasels treated with melatonin. *Science* 165, 921-922.
- Sadleir, R.M.F.S. (1969) The ecology of reproduction in wild and domestic mammals. Methuen & Co., London.
- Stetson, M.H., Elliott, J.A., Menaker, M. (1975) Photoperiodic regulation of hamster testis: circadian sensitivity to the effects of light. *Biol. Reprod.* 13, 329-339.
- Stetson, M.H., Watson-Whitmyre, M. (1975) Nucleus suprachiasmaticus: The biological clock in hamster? *Science* 191, 197-199.
- Tamarkin, L., Wesstrom, W.K., Hamill, A.I., Goldman, B.D. (1976) Effect of melatonin on the reproductive systems of male and female syrian hamsters: A diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. *Endocrinology*, 99 No. 6, 1534-1541.
- Tamarkin, L., Lefebvre, N.G., Hollister, C.W., Goldman, B.D. (1977) Effect of melatonin administered during the night on reproductive function in the Syrian hamster. *Endocrinology* 101, 631-634.
- Thorpe, P.A., Herbert, J. (1976) Studies on the duration of the breeding season and photorefractoriness in female ferrets pinealectomized or treated with melatonin. *J. Endocrin.* 70, 255-262.
- Trakulrungsi, W.K., Yeager, V.L. (1977) Effect of photoperiod on early changes in the neonatal rat pineal gland. *Experientia* 33, 84.

- Trampacz, S. (1977) Untersuchungen zum Einfluß der Photoperiode und des Melatonins auf die Struktur und Funktion des braunen Fettgewebes beim Dsungarischen Zwerghamster, *Phodopus (Pallas)*. Diplomarbeit aus dem Fachbereich Biologie der Ludwig Maximilian Universität München.
- Turek, F.W. (1977) Antigonadal effect of melatonin in pelealectomized and intact male hamsters. *Proc. Soc. Experim. Biol. and Med.* 155, 31-34.
- Turek, F.W., Desjardins, C., Menaker, M. (1975) Melatonin: Anti-gonadal and progonadal effects in male golden hamsters. *Science* 190, 280-282.
- Turek, F.W., Desjardins, C., Menaker, M. (1976) Differential effects of melatonin on the testes of photoperiodic and nonphotoperiodic rodents. *Biol. Reprod.* 15, 94-97.
- Turek, F.W., Losee, S.H. (im Druck) Melatonin-induced testicular growth in golden hamsters maintained on short days. *Biol. Reprod.*
- Vaughan, M.K., Benson, B., Norris, J.T. (1970) Inhibition of compensatory ovarian hypertrophy in mice by 5 HT and Melatonin. *J. Endocr.* 47, 397-398.
- Vaughan, M.K., Vaughan, G.M., Blask, D.E., Barnett, P., Reiter, R.J. (1976/ Arginine vasotocin: Structure-activity relationships and influence on gonadal growth and function. *Amer. Zool.* 16, 25-3
- Vaughan, M.K., Vaughan, G.M., Blask, D.E., Reiter, R.J. (1976) Influence of melatonin, constant light or blinding on reproductive system of gerbils (*Meriones unguiculatus*) *Experientia* 32, 1341.
- van Veen, T., Brackmann, M., Moghimzadeh, E. (im Druck) The post-natal development of the pineal organ in the hamsters *Phodopus sungorus* and *Mesocricetus auratus*. *Cell and Tissue Research.*

- Wiklund, L. (1974) Development of serotonin containing cells and the sympathetic innervation on the habenular region in the rat brain. *Cell Tissue Research* 155, 231-243.
- Wurtman, R.J., Axelrod, J., Kelly, D.E. (1968) *The Pineal*. Academic Press, New York, London.
- Zucker, I., Rusak, B., King, R.G. (1976) Neural bases for circadian rhythms in rodent behaviour. *Advances in Psychology* Vol. III, 35-74.
- Zweig, M.H., Snyder, S.H. (1968) The development of serotonin and serotonin related enzymes in the pineal gland of the rat. *Comm. Behav. Biol. Part A*, 103-108.

Gewichte

Versuchs- gruppe	PP	n	Körper	Hoden			access. Drüsen		ventrale Drüsen	
			(g)	(mg)	%Kgw	(mg)	%Kgw	(mg)	%Kgw	
Con	16:8	22	34,26 <u>+0,75</u>	774,44 <u>+30,52</u>	2,31 <u>+0,06</u>	230,92 <u>+12,65</u>	0,68 <u>+0,04</u>	24,23 <u>+1,46</u>	0,07 <u>+0,00</u>	
Con	8:16	18	29,64 <u>+0,92</u>	131,37 <u>+57,57</u>	0,39 <u>+0,16</u>	46,52 <u>+10,83</u>	0,15 <u>+0,03</u>	11,74 <u>+1,29</u>	0,04 <u>+0,00</u>	
Sh _(Px)	16:8	20	33,09 <u>+0,52</u>	775,00 <u>+27,23</u>	2,35 <u>+0,09</u>	229,59 <u>+10,03</u>	0,69 <u>+0,03</u>	27,83 <u>+1,90</u>	0,08 <u>+0,00</u>	
Px	16:8	20	32,78 <u>+0,57</u>	655,50 <u>+49,72</u>	1,98 <u>+0,14</u>	196,62 <u>+18,59</u>	0,59 <u>+0,05</u>	23,99 <u>+1,87</u>	0,07 <u>+0,00</u>	
Sh _(Px)	8:16	22	28,97 <u>+0,99</u>	173,02 <u>+62,52</u>	0,51 <u>+0,17</u>	60,43 <u>+15,24</u>	0,19 <u>+0,04</u>	11,60 <u>+1,86</u>	0,03 <u>+0,00</u>	
Px	8:16	19	30,09 <u>+1,21</u>	492,74 <u>+57,51</u>	1,59 <u>+0,17</u>	122,40 <u>+16,69</u>	0,40 <u>+0,05</u>	18,35 <u>+2,11</u>	0,05 <u>+0,00</u>	
Sh _(Gx)	16:8	12	33,10 <u>+0,52</u>	654,53 <u>+55,47</u>	1,98 <u>+0,17</u>	165,65 <u>+20,85</u>	0,50 <u>+0,06</u>	26,84 <u>+2,12</u>	0,08 <u>+0,00</u>	
Gx	16:8	9	31,36 <u>+1,07</u>	470,36 <u>+46,10</u>	1,50 <u>+0,14</u>	103,52 <u>+11,58</u>	0,33 <u>+0,03</u>	18,77 <u>+1,66</u>	0,05 <u>+0,00</u>	
Sh _(Gx)	8:16	5	28,58 <u>+1,16</u>	18,92 <u>+2,85</u>	0,07 <u>+0,01</u>	18,40 <u>+4,09</u>	0,06 <u>+0,01</u>	7,02 <u>+2,37</u>	0,02 <u>+0,00</u>	
Gx	8:16	8	30,61 <u>+1,44</u>	397,55 <u>+84,89</u>	1,23 <u>+0,23</u>	87,44 <u>+18,14</u>	0,34 <u>+0,05</u>	17,06 <u>+2,95</u>	0,05 <u>+0,00</u>	
Pla	16:8	13	33,71 <u>+1,24</u>	745,47 <u>+30,55</u>	2,22 <u>+0,08</u>	179,84 <u>+12,39</u>	0,53 <u>+0,03</u>	22,75 <u>+2,05</u>	0,06 <u>+0,00</u>	
Mel _{1cm}	16:8	11	32,54 <u>+0,73</u>	525,52 <u>+60,42</u>	1,61 <u>+0,18</u>	106,92 <u>+13,06</u>	0,33 <u>+0,04</u>	16,23 <u>+2,18</u>	0,04 <u>+0,00</u>	
Mel _{2cm}	16:8	10	31,67 <u>+1,00</u>	445,76 <u>+49,50</u>	1,42 <u>+0,16</u>	94,37 <u>+8,24</u>	0,30 <u>+0,03</u>	17,91 <u>+0,95</u>	0,05 <u>+0,00</u>	
Mel _{3cm}	16:8	8	31,11 <u>+1,35</u>	243,10 <u>+82,63</u>	0,72 <u>+0,23</u>	60,03 <u>+16,35</u>	0,18 <u>+0,04</u>	14,09 <u>+2,39</u>	0,04 <u>+0,00</u>	
Px+Mel _{3cm}	16:8	8	30,05 <u>+0,92</u>	369,14 <u>+74,28</u>	1,21 <u>+0,23</u>	77,55 <u>+17,79</u>	0,25 <u>+0,06</u>	19,10 <u>+2,88</u>	0,06 <u>+0,00</u>	

Tab. 1 Absolute und relative Gewichte verschiedener Versuchsgruppen männlicher Tiere im Alter von 45 Tagen mit Angabe der Gruppen- gröÙe (n) und der Photoperiode (PP) während der Versuche. Angegeben ist jeweils der Mittelwert mit dem mittleren Fehler.

Versuchs- gruppe	PP	n	Körper (g)	Gewichte Uterus		Ovarien	
	L:D			(mg)	%Kgw	(mg)	%Kgw
Con	16:8	20	28,35	42,32	0,149	11,36	0,040
			<u>+0,44</u>	<u>+2,85</u>	<u>+0,010</u>	<u>+0,61</u>	<u>+0,002</u>
Con	8:16	22	24,83	12,45	0,049	7,38	0,030
			<u>+0,18</u>	<u>+1,34</u>	<u>+0,004</u>	<u>+0,60</u>	<u>+0,002</u>
Sh _(Px)	16:8	14	25,56	42,56	0,166	9,50	0,037
			<u>+0,83</u>	<u>+3,74</u>	<u>+0,014</u>	<u>+0,65</u>	<u>+0,002</u>
Px	16:8	15	26,73	39,39	0,148	10,27	0,039
			<u>+0,57</u>	<u>+3,87</u>	<u>+0,013</u>	<u>+0,68</u>	<u>+0,003</u>
Sh _(Px)	8:16	9	28,14	19,91	0,073	7,32	0,028
			<u>+0,88</u>	<u>+3,84</u>	<u>+0,013</u>	<u>+0,63</u>	<u>+0,002</u>
Px	8:16	17	28,06	25,10	0,088	8,89	0,031
			<u>+1,04</u>	<u>+3,46</u>	<u>+0,012</u>	<u>+0,59</u>	<u>+0,002</u>

Tab. 2 Absolute und relative Gewichte verschiedener Versuchsgruppen weiblicher Tiere im Alter von 45 Tagen mit Angabe der Gruppengröße (n) und der Photoperiode (PP) während des Versuches.

Vergleich	Kgw.	Hoden		access. Drüsen		ventrale Drüsen	
		abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
L-Con : K-Con	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
L-Con : L-Sh _(Px)	* *	* *	* *	* *	* *	* *	* *
L-Px : L-Con	0,2	0,05	0,1	0,2	0,2	* *	* *
L-Px : L-Sh _(Px)	* *	0,05	0,05	0,2	0,1	0,2	0,2
L-Px : K-Px	0,05	0,05	0,1	0,01	0,02	0,05	0,1
K-Px : K-Con	* *	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
K-Px : K-Sh _(Px)	* *	0,001	0,001	0,01	0,005	0,025	0,01
K-Con : K-Sh _(Px)	* *	* *	* *	* *	* *	* *	* *

Tab. 3 Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche (t-Test) aus den Versuchen zur Auswirkung der Pinealektomie bei männlichen Jungtieren. Die den Gruppenabkürzungen beigefügten Buchstaben geben die jeweilige Photoperiode wieder (L = LD 16:8, K = LD 8:16). Angegeben sind die 2P-Werte. Werte größer als 0,2 sind durch * * symbolisiert.

Vergleich	Kgw	Uterus		Ovarien	
		abs.	rel.	abs.	rel.
L-Con : K-Con	0,001	0,001	0,001	0,001	0,005
L-Con : L-Sh _(Px)	0,005	* *	* *	* *	* *
L-Px : L-Con	0,05	* *	* *	* *	* *
L-Px : L-Sh _(Px)	* *	* *	* *	* *	* *
L-Px : K-Px	* *	0,01	0,005	0,02	0,02
K-Px : K-Con	0,01	0,001	0,005	0,10	* *
K-Px : K-Sh _(Px)	* *	* *	* *	* *	* *
K-Con : K-Sh _(Px)	0,005	0,05	0,05	* *	* *

Tab. 4 Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche (t-Test) aus den Versuchen zur Auswirkung der Pinealektomie bei weiblichen Jungtieren. Die Darstellungsform entspricht der Tab. 3.

Vergleich	Kgw	Hoden		access. Drüsen		verm. Dr.
		abs.	rel.	abs.	rel.	abs.
L-Con : LSh _(Gx)	0,2	* *	0,2	0,01	0,02	* *
L-Gx : L-Con	0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
L-Gx : L-Sh _(Gx)	0,2	0,001	0,05	0,05	0,05	0,001
L-Gx : K-Gx	* *	* *	* *	* *	* *	* *
K-Gx : K-Sh _(Gx)	* *	0,01	0,005	0,02	0,005	0,001
K-Gx : K-Con	* *	0,02	0,01	0,1	0,005	0,1
K-Con : K-Sh _(Gx)	* *	* *	* *	0,005	0,2	0,1
L-Gx : L-Px	* *	0,05	0,05	0,05	0,005	0,1
L-Gx : K-Px	* *	* *	* *	* *	* *	* *
K-Gx : K-Px	* *	* *	* *	* *	* *	* *

Tab. 5 Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche (t-Test) aus den Versuchen zur Auswirkung der Ganglionektomie bei männlichen Jungtieren. Die Darstellungsform entspricht der Tab. 3.

Vergleich	Kgw.	Hoden		access. Drüsen		ventrale Drüsen	
		abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
L-Con : Pla	**	**	**	0,02	0,01	**	**
Pla : Mel _{1cm}	**	0,005	0,005	0,001	0,001	0,05	0,02
Pla : Mel _{2cm}	**	0,001	0,001	0,001	0,001	0,1	0,2
Pla : Mel _{3cm}	0,2	0,001	0,001	0,001	0,001	0,02	0,005
Pla : Px+Mel _{3cm}	0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	**	**
Px+Mel _{3cm} : Mel _{3cm}	**	**	0,2	**	**	**	0,1
Px+Mel _{3cm} : Mel _{2cm}	**	**	**	**	**	**	**
Px+Mel _{3cm} : Mel _{1cm}	0,025	0,2	0,2	0,2	**	**	0,2
Px+Mel _{3cm} : L-Px	0,02	0,005	0,01	0,001	0,001	0,2	0,1
Mel _{1cm} : Mel _{2cm}	**	**	**	**	**	**	**
Mel _{1cm} : Mel _{2cm}	**	0,02	0,01	0,05	0,025	**	**
Mel _{2cm} : Mel _{3cm}	**	0,05	0,02	0,1	0,05	0,2	0,1
Mel _{3cm} : K-Con	**	**	**	**	**	**	**

Tab. 6 Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche (t-Test) aus den Versuchen zur Auswirkung von Melatoninimplantaten bei männlichen Jungtieren im Langtag. Die Darstellungsform entspricht der der Tab. 3.

LEBENS LAUF

Name: Brackmann, Michael, Dr. med. vet.
geboren: 21.4.1950 in Vechta
Eltern: Dr. med. dent. Oscar Brackmann und Frau
Elisabeth geb. Schnieder
Schulen: 1956 - 1960 Alexander Schule in Vechta
1960 - 1968 Altsprachlich humanistischer
Zweig des Gymnasium Antonianum
in Vechta; Abitur 14.5.1968
Studium: WS 68/69 - SS 71 Tiermedizin an der Tier-
ärztlichen Hochschule Hannover; SS 69
Vorphysikum, SS 70 Physikum, SS 71 1. Ab-
schnitt des Staatsexamens
WS 71/72 - SS 73 Tiermedizin an der tier-
ärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilian
Universität München
SS 72 2. Abschnitt des Staatsexamens, SS
73 3. Abschnitt des Staatsexamens.
WS 73/74 - SS 75 Biologie an der Technischen
Universität München
WS 75/76 - dato Biologie im Fachbereich
Biologie der Ludwig Maximilian Universität
München
Approbation: 16.4.1974
Promotion: 19.12.1975 an der Tierärztlichen Hochschule
Hannover
von Mai 1975 als Forschungsstipendiat der Max-Planck-
bis Dezem- Gesellschaft am Max-Planck-Institut für
ber 1977 Verhaltensphysiologie in der Abteilung
Aschoff, Erling-Andechs.
Seit Januar 1978 als Assistent am Zoologischen Garten in
Duisburg

